

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. И.П.ПАВЛОВА

На правах рукописи

МОШОНКИНА Татьяна Ромульевна

ИНТЕГРАТИВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ МОТОРНОГО КОНТРОЛЯ
ИНТАКТНОГО И ПОВРЕЖДЕННОГО СПИННОГО МОЗГА

03.03.01- физиология

Диссертация на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Научный консультант:
чл.-корр. РАН, д.б.н., проф.
Ю.П. Герасименко

Санкт-Петербург
2017

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ И ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Спинальные локомоторные сети у человека.....	12
1.2. Афферентный контроль локомоторных движений	14
1.3. Участие серотониновой системы в контроле локомоции.....	17
1.4. Электрическая стимуляция спинного мозга человека для исследования спинальных локомоторных сетей и нейрореабилитации двигательных функций	21
Глава 2. СЕНСОРНО-МОТОРНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СПИНАЛИЗИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ.....	25
2.1. Морфофункциональное исследование влияния локомоторных тренировок на восстановление двигательной активности у спинализированных крыс	25
2.1.1. Материалы и методы	26
2.1.2. Результаты и обсуждение.....	28
2.2. Морфофункциональное исследование влияния локомоторных тренировок на восстановление двигательной активности у деафферентированных спинализированных крыс	33
2.2.1. Материалы и методы.....	34
2.2.2. Результаты и обсуждение	37
Глава 3. СЕРТОНИНЭРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ У СПИНАЛИЗИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ.....	42
3.1. Эффекты транскраниальной стимуляции на двигательное поведение спинализированных крыс	44
3.1.1. Материалы и методы	44
3.1.2. Результаты и обсуждение	45
3.2. Влияние квипазина на регуляцию двигательной активности спинализированных крыс. Морфологический анализ эффектов активации серотонинергической системы	46
3.2.1. Материалы и методы.....	46
3.2.2. Результаты и обсуждение	48
Глава 4. ИНИЦИАЦИЯ И РЕГУЛЯЦИЯ НЕПРОИЗВОЛЬНЫХ ЛОКОМОТОРНЫХ ДВИЖЕНИЙ У ЗДОРОВЫХ ИСПЫТУЕМЫХ	58
4.1. Чрескожная электрическая стимуляция спинного мозга человека	63
4.1.1. Материалы и методы	63
4.1.2. Результаты и обсуждение.....	65
4.2. Эффекты многоканальной чрескожной стимуляции спинного мозга.....	76
4.2.1. Материалы и методы.....	76
4.2.2. Результаты и обсуждение	77

4.3. Эффекты сочетанной электрической стимуляции спинного мозга и афферентной стимуляции в регуляции локомоторной активности	91
4.3.1. Материалы и методы.....	92
4.3.2. Результаты и обсуждение	94
Глава 5. ЧРЕСКОЖНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ СПИННОГО МОЗГА В РЕАБИЛИТАЦИИ ПАЦИЕНТОВ С ДВИГАТЕЛЬНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ.....	110
5.1. Комплексная реабилитация спинальных пациентов с участием фармакологического, электростимуляционного воздействия и механотерапии.....	110
5.1.1. Материалы и методы	111
5.1.2. Результаты и обсуждение.....	114
5.2. Регуляция двигательных функций у пациентов с детским церебральным параличом с помощью неинвазивной стимуляции спинного мозга	121
5.2.1. Материалы и методы.....	123
5.2.2. Результаты и обсуждение	127
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	136
ВЫВОДЫ	145
СПИСОК ЦИТИРОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	147
ПРИЛОЖЕНИЕ 1 Метод ВВВ-шкалирования.....	175
ПРИЛОЖЕНИЕ 2 Список использованных в тексте сокращений	176
ПРИЛОЖЕНИЕ 3 Основные публикации по теме диссертации	177

ВВЕДЕНИЕ И ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ

Активное перемещение в пространстве, наряду с питанием, дыханием и размножением, является основой и неотъемлемой частью существования животных. Первые позвоночные появились около 500 млн. лет назад, с тех пор благодаря эволюционному отбору система управления движением – моторный контроль, - адекватно реагирует на изменяющиеся условия внешней среды, защищает от повреждающих воздействий, помогает добывать пищу, участвует в размножении и т.п. У позвоночных управление движением со стороны нервной системы строится как на унаследованном автоматизме реакций (врождённые синергии) на внешние и внутренние раздражители, так и на автоматизации индивидуальных реакций в виде сложных действий, вырабатываемых в процессе индивидуального развития, эта регуляция состоит в интеграции настраивающихся циклов управления на разных уровнях нервной системы (Шмальгаузен, 1968). За всю долгую историю физиологической науки многое стало ясным в системе управления движениями, но и сейчас актуальны слова, написанные П.К. Анохиным в 1968 году: «... мы оказываемся совершенно бессильными, когда нам надо ответить на простой вопрос: как может лягушка почти мгновенно сбрать в фокусе какой-то функциональной организации все эти тысячи элементарных процессов, рассеянных по всему организму и осуществить такой приспособительный акт, каким является, например, прыжок?» (Анохин, 1968).

В сложной системе управления движением спинной мозг выполняет фундаментальную роль, так как здесь находятся проводящие пути, конечное звено цепи запуска движения (мотонейроны), система аfferентов, на которых основан непрерывный контроль движения, сети интернейронов, осуществляющие сенсорно-моторную интеграцию и обеспечивающие межсегментарные взаимодействия. Именно на уровне спинного мозга замыкаются процессы, которые в конце концов приводят

к осуществлению человеком и животными всех тех «ловких» движений, о которых писал Н.А. Бернштейн (Бернштейн, 1991).

Актуальность. Из-за сложной организации системы управления позой и локомоцией неослабевающий научный интерес представляют экспериментальные исследования роли спинного мозга в этой системе, и особый интерес – в системе управления движением у человека. С одной стороны, из-за ограниченности методов, с которыми мы можем подступиться к исследованиям спинного мозга человека, с другой – из-за потребностей практической медицины в разработке эффективных методов нейрореабилитации последствий заболеваний и травм спинного мозга.

Цели и задачи исследования. Целью работы было исследовать спинальные механизмы инициации и управления локомоторными движениями при интактном и повреждённом спинном мозге. Для решения этой цели были сформулированы следующие задачи.

(1) Изучить роль афферентов, и в частности, опорных реакций, в инициации движений и для этого провести морфофункциональное исследование на хронических спинализированных животных в условиях разных двигательных воздействий после спинализации.

(2) Изучить роль серотонинергической системы в организации движений на уровне спинного мозга, так какmonoаминергические нейромедиаторные системы играют большую роль в интегрировании функций мозга, а серотонинергическая система – одна из самых филогенетически древних систем и, следовательно, задействована в реализации такой базовой функции как движение (Parent, 1984).

(3) Доказать, что в норме в спинном мозге человека существуют нейронные сети, при воздействии на которые можно инициировать шагательные движения, а для этого найти способ воздействия на спинной мозг здоровых добровольцев, чтобы инициировать эти движения и научиться управлять их параметрами. Задача исходит из того, что ранее на пациентах с травмой спинного мозга было показано, что у человека, как

и у всех на тот момент исследованных позвоночных животных, существуют в спинном мозге нейронные сети, которые могут инициировать шагоподобные движения (Dimitrijevic, Gerasimenko, 1998), однако данные получены у пациентов с последствиями травмы спинного мозга, то есть после адаптивных перестроек системы управления движений.

(4) Транслировать полученные результаты о роли афферентов, роли серотонинергической системы в организации локомоторных движений и о способах управления непроизвольными локомоторными движениями в практику нейрореабилитации двигательных нарушений вследствие неврологических заболеваний.

Научная новизна состоит в том, что впервые в морфофункциональных исследованиях на животных продемонстрировано, что в отсутствии супраспинальных связей раздражение опорных рецепторов стопы является ключевым моментом для запуска локомоторных движений, в этих условиях активация серотонинергической системы активирует спинальные локомоторные сети. Впервые была показана возможность применения электромагнитной и чрескожной электрической стимуляции спинного мозга для исследования спинальных локомоторных сетей здорового человека – все предыдущие доказательства были получены в исследованиях на пациентах со спинальной травмой. Показано, что стимуляция афферентов меняет паттерн шагательных движений, вызываемых неинвазивной стимуляцией спинного мозга, приближая паттерн вызванных движений к паттерну естественных локомоторных движений. Таким образом, получены новые доказательства того, что у человека, как и у животных, афференты играют ключевую роль в управлении спинальной локомоцией. Эти результаты были транслированы в клиническую практику для разработки методов двигательной реабилитации спинальных пациентов и пациентов с тяжелой формой детского церебрального паралича (ДЦП), в результате были

получены принципиально новые данные о возможности перенастройки спинальных локомоторных сетей человека с аномалией их развития.

Положения, выносимые на защиту.

1. Спинной мозг млекопитающих в отсутствии супраспинальных связей обладает нейронными ансамблями и нейронными связями, достаточными, для активации двигательного локомоторного паттерна. В этих условиях афферентные связи играют принципиально важное значение. Введение агонистов серотониновых рецепторов частично компенсирует недостаток супраспинальных связей, что проявляется в нормализации состояния спинальных локомоторных сетей нейронов.

2. Разработаны методы, демонстрирующие существование спинальных локомоторных сетей у здорового человека. Эти методы могут быть использованы для исследования механизмов функционирования этих сетей у человека в норме и для разработки способов двигательной реабилитации пациентов с моторными нарушениями разной неврологической природы.

3. Метод неинвазивной электрической стимуляции спинного мозга может быть использован для регуляции функций как спинальных локомоторных сетей, утративших супраспинальные связи, но до этого нормально функционировавших, так и этих сетей, развивавшихся в условиях патологических влияний со стороны головного мозга, не функционировавших нормально на протяжении всего своего развития.

Научно-теоретическое и практическое значение

Исследование интегративных механизмов моторного контроля спинного мозга представляет собой актуальную задачу современной физиологии движений, поскольку имеет как фундаментальное значение – развитие представлений об общих принципах организации системы управления движениями человека и животных, - так и практическое значение в плане разработки современных эффективных методов

восстановления двигательных нарушений и разработки новой техники для проведения реабилитационных процедур.

Теоретическая значимость диссертационного исследования состоит в том, что показана управляющая роль афферентов, и в частности, опорных реакций, в инициации движений. Определено значение серотонинергической системы в организации движений на уровне спинного мозга. Доказано, что в норме в спинном мозге человека существуют нейронные сети, при воздействии на которые можно инициировать непроизвольные шагательные движения. Практическая значимость диссертационной работы состоит в том, что полученные результаты были транслированы в клиническую практику: показана высокая эффективность применения неинвазивной электрической стимуляции спинного мозга для реабилитации двигательных нарушений у спинальных пациентов и у детей с тяжелой формой детского церебрального паралича.

Апробация работы

Материалы исследований докладывались на IV Международной конференции по функциональной нейроморфологии (Санкт-Петербург, 2002), на II Международной конференции по физиологии мышц и мышечной деятельности (Москва, 2003), на XIX Съезде физиологического общества (Екатеринбурге, 2004), на Конференции по функциональной электрической стимуляции (Вена, 2004), на III Международной школе-конференции по физиологии мышц и мышечной деятельности (Москва, 2005), на I Съезде физиологов СНГ (Сочи, 2005), на I Всероссийской с международным участием конференции по управлению движением (Великие Луки, 2006), на V Международной конференции по функциональной нейроморфологии (Санкт-Петербург, 2006), на 3-ей международной научно-практической школе-конференции МЕДБИОТЕК «Актуальные вопросы инновационной деятельности в биологии и медицине» (Москва, 2006), на IV Всероссийской с международным

участием Школе-конференции по физиологии мышц и мышечной деятельности «Инновационные направления в физиологии двигательной системы и мышечной деятельности» (Москва, 2007), на XX съезде физиологического общества имени И.П. Павлова (Москва, 2007), на Конференции «Актуальные проблемы ТЭС-терапии» (Санкт-Петербург, 2008), на II Российской конференции по управлению движением (Петрозаводск, 2008), на V Международном Междисциплинарном Конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2009), на III Всероссийской с международным участием конференции по управлению движением (Великие Луки, 2010), на Совещании «Нейродегенеративные заболевания: современные представления о патогенезе, диагностике и лечении» (Москва, 2010), на VII Международном междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2011), на VI Всероссийской с международным участием Школе-конференции по физиологии мышц и мышечной деятельности (Москва, 2011), на Конференции «Управление в технических, эргатических, организационных и сетевых системах» (Санкт-Петербург, 2012), на VIII Международном междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2012), на IV Всероссийской с международным участием конференции по управлению движением (Москва, 2012), на III Российско-тайваньском симпозиуме «Современные проблемы интеллектуальной мехатроники, механики и управления» (Москва, 2012), на IV Съезде физиологов СНГ (Сочи, 2014), на V Российской, с международным участием, конференции по управлению движением (Петрозаводск, 2014), на XI Международном междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2015), на Всероссийской с международным участием конференции с элементами научной школы по физиологии мышц и мышечной деятельности «Новые подходы к изучению классических проблем» (Москва, 2015), на Всероссийской конференции с международным участием «Современные

проблемы физиологии высшей нервной деятельности, сенсорных и висцеральных систем» (Санкт-Петербург–Колтуши, 2015), на VI Российской с международным участием конференции по управлению движением (Казань, 2016), на V Съезде физиологов СНГ (Сочи, 2016), на Международном научном семинаре с элементами научной школы для молодых ученых "Интегративные механизмы регуляции двигательных и висцеральных функций при поврежденном спинном мозге" (Санкт-Петербург, 2016), на конференции «Клиническая нейрофизиология и нейрореабилитация» (Санкт-Петербург, 2016).

Публикации

Основные результаты опубликованы в 88 научных работах, среди которых 31 статья в ведущих рецензируемых научных журналах, глава в монографии и методические клинические рекомендации, получено 11 патентов на изобретения.

Личный вклад диссертанта. Все результаты, представленные на защиту, получены лично диссидентом или при его непосредственном участии. Автор выполнял постановку целей и задач исследований, разработку экспериментальных моделей и опытных установок, проведение экспериментов, обработку и интерпретацию результатов.

Структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, четырех глав собственных экспериментальных исследований и их обсуждения, общего заключения, выводов и списка цитированной литературы из XXX наименований, двух приложений. Диссертация изложена на XXX страницах, содержит XX Рисунка и XX таблицы.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В современной физиологии нет канонического определения термина «моторный контроль». Остановимся на объяснении этого понятия, происходящего из теории нейронных сетей. Wolperta, Kawato (1998) считают, что управление движением можно рассматривать как определение той системы из множества систем, которую необходимо контролировать, чтобы достичь определенных желаемых результатов; проблема мотороного контроля может состоять в выборе моторной команды, с помощью которой можно достигнуть желаемого результата движения, контролируемого обратной сенсорной связью. Регуляция двигательной активности осуществляется сложной иерархически подчиненной системой, включающей моторные зоны коры больших полушарий, базальные ганглии, мозжечок, локомоторные области ствола мозга, проводящие пути спинного мозга и, собственно, спинальный центр, известный как генератор шагательных движений (central pattern generator) (Grillner, Wallén, 1985; Гурфинкель и др., 1998), передающий команды непосредственно на мотонейроны конкретных мышц. Единым принципом организации супраспинальных моторных систем, неизменным на всех уровнях эволюционного развития позвоночных, является сохранение прямых и опосредованных связей этих систем с моторным выходом спинного мозга и, соответственно, различных способов влияния на эфферентную активность (Шаповалов, 1972; и др.). Многие исследователи (Jankowska, 1975; Lundberg, 1979; и др.) полагали, что супраспинальные сигналы оказывают влияние, в основном, путем модуляции активности полисинаптических внутрисегментарных рефлексов, влияя на интенсивность и динамику возбуждающих и тормозных процессов, обусловленных активностью внутрисегментарных и межсегментарных нейронных сетей.

Работами Ю.П. Иваненко (2016) было показано, что структурно-функциональная организация моторного выхода у человека существенно отличается от моторного выхода у животных; это проявляется в разном распределении активности сгибателей и разгибателей при разных видах локомоторных движений, при ходьбе вперед и назад, при беге, при разгрузке тела. Этот факт свидетельствует о необходимости получения все новых и новых фактов об особенностях функционирования локомоторной системы человека, так как эти факты, с одной стороны, дополняют наши знания о природе движений, с другой – могут стать основой новых методов реабилитации двигательных нарушений у человека.

Диссертационное исследование посвящено изучению механизмов регуляции двигательной активности в отсутствии супраспинальных связей у животных и человека, то есть исследованиям процессов, происходящих на уровне спинного мозга. Еще в 1890 г. И.М. Сеченов (цит. по Сеченов, 1952) высказал мысль, что спинной мозг содержит все элементы, необходимые для детальной координации работы мышц. Несмотря на проведенные с тех пор многочисленные исследования наши знания о спинальных механизмах регуляции локомоции далеко не полные.

1.1. Спинальные локомоторные сети у человека

Сейчас хорошо известно, что спинной мозг позвоночных содержит нейронные сети, которые могут генерировать локомоторный паттерн, и, лишенный супраспинального контроля, может управлять локомоторной активностью (Sherrington, 1906, 1910; Brown, 1911, 1913, 1914; Forsberg, Grillner, 1973; Grillner, 1981; Rossignol, 1996; и др.). Сложнее оказалось с доказательством существования таких сетей в спинном мозге человека. Менее двух десятилетий назад в этом еще не было абсолютной уверенности, доказательства основывались на клинических наблюдениях и экспериментальных исследованиях, проведенных на пациентах с травмой спинного мозга. Были описаны случаи кратковременной спонтанной

ритмической шагоподобной активности ног у таких пациентов (Kuhn, 1950; Bussel et al., 1988). Описан клинический случай частичного восстановления локомоторной активности у пациента с неполным моторным перерывом, парализованного после травмы спинного мозга в шейном отделе, (Calancier et al, 1994). На 17-ый год после травмы, после 3-х лет занятий лечебной физкультурой, у него появились непроизвольные ритмические шагательные движения, состоящие из чередующихся флексии и экстензии в тазобедренных, коленных и голеностопных суставах, движения не поддавались произвольному контролю. Таким образом, этот случай можно считать первым доказательством того, что у человека, как и у всех исследованных позвоночных животных, нейронные сети спинного мозга могут запускать локомоторную активность. В это же время Диец с коллегами (Dietz et al., 1994) подтвердили этот вывод, сделанный на основании единичного случая, результатами исследования на группе спинальных пациентов с полной параплегией. Ими показано, что непроизвольные шагательные движения инициируются в условиях вертикальной вывески с полной поддержкой веса тела, когда стопы касаются бегущей дорожки тренажера. Движения возникали через 4-5 недель локомоторных тренировок.

Использование метода электрической эпидуральной стимуляции спинного мозга у спинальных пациентов доказало, что в спинном мозге человека, как и у животных, существуют нейронные сети, которые могут генерировать локомоторный паттерн, и в отсутствии супраспинального контроля могут управлять локомоторной активностью. В спинном мозге были определены места, электрическая стимуляция которых приводит к появлению локомоторных движений у пациентов (Dimitrijevic et al., 1998; Макаровский и др., 1999; Шапков и др., 1999; Герасименко, 2002; и т.д.). В то время, когда интактный, normally функционирующий, спинной мозг человека оставался недоступным для экспериментальных исследований, возможности инициации движений в отсутствии супраспинальных связей,

клинические результаты служили доказательством существования спинальных локомоторных сетей у человека.

До недавнего времени оставалось неясным, может ли спинной мозг здорового человека индуцировать локомоторные движения, то есть можно ли как-то воздействовать на интактный, не измененный болезнью, спинной мозг человека, чтобы вызвать локомоторные движения. Такая возможность, во-первых, послужила бы доказательством того, что в норме между человеком и другими исследованными млекопитающими нет принципиальных различий в организации локомоторных движений, что, в свою очередь, дало бы основание считать, что и другие, исследованные у животных механизмы управления локомоцией, работают у человека. Во-вторых, такая возможность стала бы хорошим инструментом для исследования интактного спинного мозга человека и животных.

1.2. Афферентный контроль локомоторных движений

Возвращаясь к мысли И.М. Сеченова о том, что спинной мозг содержит все элементы, необходимые для детальной координации работы мышц, рассмотрим некоторые из этих элементов. Шеррингтон показал в исследованиях на децеребрированных и спинализированных кошках, что такие животные способны выполнять шагоподобные движения в условиях отсутствия связи между головным и спинным мозгом (Sherrington, 1906, 1910). Исходя из результатов своих экспериментов, он считал, что локомоция находится исключительно под проприоцептивным контролем (Sherrington, 1910). Современная схема регуляции локомоторной активности объединяет в себе идеи центрального управления и управления по афферентной обратной связи (Козловская, 1976; Stein, 1978; Баев, 1983; Rossignol, 1996; Orlovsky et al, 1999; и др.). Показано, что один только усиленный афферентный приток может повысить возбудимость центральных спинальных структур, ответственных за генерацию ритмики, и вызвать локомоторную активность. Так, в экспериментах

с использованием модели опорной разгрузки методом вывешивания ног вибрация мышц бедра и голени у человека вызывает циклические движения нижних конечностей, при этом регистрируется реципрокная активность во флексорах и экстензорах одной ноги и противофазная активность в одноименных мышцах разных ног (Гурфинкель и др., 1998). Позднее в таких же экспериментальных условиях было показано, что стимуляции опорных зон стоп в режиме ходьбы сопровождается непроизвольными движениями ног, при этом в 53% случаев эти движения имеют выраженный локомоторный характер (Томиловская и др., 2012).

При естественной локомоции сочетается центральное управление и управление по афферентной обратной связи. Доказана важная роль кожной афферентации в регуляции локомоторной активности (Sherrington, 1906; Magnus, 1926; Engberg, 1964; Козловская, 1976; Whelan, 1996). Вероятно, этот афферентный вход подстраивает локомоторный паттерн под характеристики опоры. Показано, что ответ на стимуляцию кожного нерва зависит от силы раздражения, его локализации, а также от фазы локомоторного цикла, в которое это раздражение наносилось (Duysens, Pearson, 1976; Duysens, 1977; Duysens, Stein, 1978; Grillner, Rossignol, 1978). Стимуляция кожи тыла стопы в начале фазы переноса приводит к двигательному паттерну, напоминающему переступание через препятствие (Forssberg, 1979).

В сухопутной локомоции важным этапом регуляции является переход от фазы опоры к фазе переноса. Так, например, у всех наземных животных и у человека мышцы-разгибатели обладают довольно большим тонусом, поскольку непрерывно приходится оказывать противодействие силе тяжести, а регуляция активности этих мышц играет особую роль как во время локомоции, так и во время поддержания позы. Перед началом ходьбы постуральный тонус увеличивается вследствие нисходящих ретикулоспинальных влияний (Mori et al., 1992), а во время ходьбы тонус поддерживается с участием афферентного входа (Whelan, 1996). Интересен

механизм регуляции: афферентные сигналы во время движений могут менять характер центральных команд на прямо противоположные. Так, стимуляция Ib-афферентов, происходящих от рецепторов Гольджи разгибателей, вместо тормозного действия на разгибатели начинает их активировать по олигосинаптическим путям (Gossard et al., 1994). Подстройка активности мышц под конкретную двигательную задачу во время ходьбы происходит с участием сенсорного влияния, показана значительная роль проприоцепторов тазобедренного сустава во время смены фаз ходьбы (Anderson, Grillner, 1981; Kriellaars et al. 1994). Афферентное влияние от контралатеральной конечности важно для поддержания равновесия и межконечностной координации при локомоции (Orlovsky et al. 1999).

Как отмечалось выше, афферентный вход в специфических условиях может не только регулировать, но и запускать активность спинальных локомоторных сетей. У животных в первые дни после полной перерезки спинного мозга необходима механическая стимуляция промежности или основания хвоста для того, чтобы вызвать локомоторные движения задних конечностей (Rossignol et al., 2002). Восстановление локомоции у спинализированной кошки требует интенсивной ежедневной тренировки на беговой дорожке (Edgerton et al., 1997) или на тренажере, обеспечивающем воспроизведение шагательного паттерна (Никитин и др., 2007). Это подтверждают и цитированные выше работы Калансье и Дица, показавших, что у людей с полным перерывом спинного мозга могут появиться локомоторные движения после интенсивных локомоторных тренировок, даже через 17 лет после травмы (Calancie et al, 1994; Dietz et al., 1994).

При всем многообразии фактов, демонстрирующих участие афферентной системы в регуляции локомоций, все они получены в исследованиях с применением электрофизиологических и поведенческих методов. Мы не нашли опубликованных данных о том, какие изменения

происходят в структуре спинальных локомоторных сетей в ответ на афферентную стимуляцию. Задачей этого этапа работы было выявить изменения структуры нейронов и межнейронных связей, происходящие при том или ином афферентном воздействии. Такое морфофункциональное исследование, во-первых, должно выявить, какие структуры спинного мозга вовлечены в реализацию интегративных механизмов управления спинальными локомоторными сетями, во-вторых, позволит прогнозировать результативность и сохранность эффекта локомоторных тренировок – активно применяемого инструмента нейрореабилитации двигательных нарушений.

1.3. Участие серотониновой системы в контроле локомоции

Известно, что многие нейротрансмиттеры оказывают существенное влияние на локомоторное поведение. Аминокислоты глутамат и аспартат, оказывают возбуждающее действие; гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) и глицин – тормозное;monoамины – серотонин, норадреналин и дофамин, - а также нейропептиды, могут выполнять функции как синаптических трансмиттеров, так и модуляторов (Королев, Суслова, 2012). Показано, что у кошек после полной перерезки спинного мозга норадренергические препараты (например, L-DOPA, клонидин) обеспечивают запуск реципрокной ритмической активности мышц-антагонистов (Jankowska et al., 1967; Rossignol et al., 1998), а также шагоподобной двигательной активности (Chauet al., 1998).

В норме серотонин попадает в структуры спинного мозга по нисходящим бульбоспинальным путям, от ядер шва, где находятся серотониновые нейроны (Fuxe, 1965). Иммуногистохимическими и гистохимическими методами показано, что более 80% волокон, нисходящих от ядер шва к структурам спинного мозга, окрашиваются на серотонин (Bowker et al., 1985). Серотонинергическая система – одна из самых филогенетически древних систем, она существует у круглоротых

(миноги) и у примитивных костистых рыб и, следовательно, задействована в реализации базовых функций: питание, размножение, движение (Parent, 1984). Поэтому можно предположить, что она жестко встроена в систему управления локомоцией. И это так – на протяжении последних десятилетий получено большое количество доказательств того, что серотонин участвует в модуляции спинальных рефлексов и в генерации локомоции (Schmidt, Jordan, 2000).

В спинном мозге новорожденных крысят серотонин инициирует ритмическую активность, которую связывают с локомоцией (Cazalet et al., 1992; Squali-Houssaini et al., 1993; Cowley, Schmidt, 1994; Kiehn, Kjærulff, 1996; Beato et al., 1997; и др.). У взрослых животных введение серотонина облегчает локомоторную активность, это показано в исследованиях на крысах (Feraboli-Lohnherr et al., 1999), кошках (Barbeau, Rossignol, 1990, 1991) и кроликах (Viala, Buser, 1969). Показано, что у спинальных животных (в отсутствии супраспинального контроля) агонисты серотониновой системы не инициируют шагательные движения, но могут модулировать у этих животных локомоторную активность (Barbeau, Rossignol, 1990; Chauet et al., 1998; Feraboli-Lohnherr et al., 1998; Fong et al., 2005; Musienko et al., 2011). На модели децеребрированной кошки в остром опыте было показано, что инъекции антагониста серотониновой системы – кетанзерина – препятствует возникновению локомоторных движений задних конечностей, вызванных электрической эпидуральной стимуляцией поясничного утолщения спинного мозга (Gerasimenko et al., 2009).

Было получено, что активация серотониновой системы в сочетании с локомоторными тренировками значительно облегчает и ускоряет у спинальных животных восстановление двигательных функций после повреждения спинного мозга (Fong et al., 2005). Авторы этой работы исследовали восстановление бипедальной локомоции у мышей, помещая животных в специальную подвеску; при этом под их лапами двигалась бегущая лента, что обеспечивало непрерывную стимуляцию опорной

поверхности стоп, а поддержание позы обеспечивала система компенсации веса тела. У животных с полным перерывом спинного мозга в нижнегрудном отделе агонисты серотониновой системы улучшают характеристики локомоции, вызванной электрической эпидуральной стимуляцией спинного мозга, приближая биомеханические характеристики вызванной локомоции к характеристикам естественной локомоции (Gerasimenko et al., 2007). Совсем недавно было показано, что сочетание локомоторных тренировок, электрической стимуляции спинного мозга и фармакологической стимуляции смесью препаратов, куда входили также агонисты серотониновой системы, приводит к частичному восстановлению у спинальных крыс функции поддержки веса тела, к возможности произвольной инициации локомоторных движений и целенаправленной локомоции к пищевой приманке (van den Brand et al., 2012).

Обсуждение накопленных фактов, демонстрирующих уникальную роль серотонинергической системы в инициации локомоции, приводит иногда к таким предположениям: «Результаты опытов на спинализированных крысах позволяют думать, что при тонической стимуляции сохраненной части спинного мозга – например, через вживленные электроды – там идет повышение концентрации всех трех медиаторов моноаминергических систем – серотонина, дофамина и норадреналина ... не нужен никакой сенсорный вход, не нужна обратная связь от мышц (она есть на уровне нижних конечностей), нужно только компенсировать управление сверху, которое, оказывается, осуществляется тонической сигнализацией» (Балабан и др., 2013). В действительности есть данные о том, что серотонинергическая система модулирует активность афферентов, участвующих в регуляции локомоции.

Показано, что на соме нейронов афферентов группы II находятся синапсы серотониновых аксонов, серотонин оказывает тормозное влияние на эти афферентные нейроны (Jankowska et al., 1997). Получено также, что

серотонин тормозит передачу от афферентов флексорного рефлекса на мотонейроны (Anden et al., 1968). Возбудимость первичных афферентов модулируется серотонином (Carstens et al., 1987; Hentall, Fields, 1983), а аппликация серотонина блокирует деполяризацию первичных афферентов, вызываемую тетродотоксином (Lopez-Garcia, King, 1996).

Таким образом роль серотонина в организации локомоции уникальна – он регулирует активность как спинальных локомоторных сетей, так и афферентного звена в системе организации спинальной локомоции. Серотонин синтезируется в структурах головного мозга и в случае отсутствия супраспинальных влияний, при спинализации у животных, при спинальной травме у человека, спинальные локомоторные сети лишаются одного из ключевых регулирующих сигналов. Введение фармакологических препаратов – агонистов серотониновых рецепторов, – удобный метод исследования спинальных механизмов управления локомоцией и потенциально возможный метод реабилитации двигательных функций у пациентов со спинальной травмой. При всем богатстве экспериментальных доказательств важности роли серотониновой системы в организации спинальной локомоции, все они, как и в случае с исследованиями роли афферентной системы в организации локомоции, получены в электрофизиологических или поведенческих экспериментах. Нет данных о том, какие изменения происходят в структуре спинальных локомоторных сетей в ответ на активацию серотониновой системы. С учетом всего сказанного было проведено морфофункциональное исследование роли серотониновой системы в афферентном контроле функции поддержания веса тела и организации локомоции на модели хронических спинализированных крыс.

1.4. Электрическая стимуляция спинного мозга человека для исследования спинальных локомоторных сетей и нейрореабилитации двигательных функций

Первое применение электрической эпидуральной стимуляции спинного мозга в клинике относится к 1967 году, когда стимуляция была использована для подавления боли (Shealy, Mortimer, Reswick, 1967). Уже начиная с 70-х годов прошлого века, электростимуляция спинного мозга является известным способом лечения хронического болевого синдрома (Lazorthes, Verdie, 2005; Исагулян, 2006; Нинель и др., 2006; Шабалов, 2004; Зеелигер, Мельник, 2009).

Также были описаны случаи использования этого метода для восстановления функций тазовых органов (Sedan et al., 1974), улучшения периферического кровотока (Meglio et al., 1981), снижения спастичности (Barolat et al., 1988), повышения двигательной активности у больных с рассеянным склерозом (Tallis et al., 1983) и восстановления координации движений (Dimitrijevic, Faganel, 1985; Gerasimenko et al., 1992).

В 1998 г. у пациентов со спинальной травмой методом электрической эпидуральной стимуляции были инициированы непроизвольные шагоподобные движения и это послужило доказательством, что у человека, как и у других позвоночных, существуют спинальные локомоторные сети (Dimitrijevic et al., 1998). Этот результат свидетельствовал также и о том, что в отсутствии супраспинальных связей у человека спинальные локомоторные сети могут запускать локомоторные движения и объяснял ранее наблюдение: у пациентов, которым стимулировали спинной мозг для уменьшения болевого синдрома, заметно улучшились координация движений, уменьшились проявления дистонии и гиперкинеза (Cook, Weinstein, 1973). Стало очевидным, что эпидуральную электрическую стимуляцию спинного мозга можно применять для двигательной реабилитации спинальных пациентов. В 2000-х начали появляться такие работы. В публикации (Цымбалюк, Яминский, 2011) представлены

результаты применения эпидуральной электрической стимуляции спинного мозга в лечении 59 больных с застарелым повреждением шейных сегментов спинного мозга. Изучено также влияние стимуляции на восстановление движений, коррекцию болевого синдрома и спастичности, улучшение контроля функции мочевого пузыря в зависимости от длительности существования травмы спинного мозга и ее тяжести. Восстановление и улучшение движений в верхних конечностях отмечено у 94.9% больных, восстановление движений в нижних конечностях – у 10.2%, их улучшение – у 11.9%. Функция ходьбы восстановлена у 8.5% больных, улучшилась – у 3.4%.

Е.Ю. Шапкова использует электростимуляцию спинного мозга как компонент сложной методики нейрореабилитации больных с вертеброгенными миелопатиями (Шапкова, 2007), включающей в себя также проприоспинальную стимуляцию, динамическую тренировку вертикальной позы и т.п. Автор сообщает о том, что за период наблюдений при исходно полных плегиях восстановление разной степени компенсация локомоторных возможностей достигнуты у 71% пациентов, при неполных плегиях улучшение двигательных функций наблюдалось у всех пациентов.

Длительный опыт применения электростимуляции спинного мозга на обширной группе больных с нейро-ортопедическими проблемами, воспалительными заболеваниями и травмами позвоночника обобщен в публикациях А.Н. Макаровского с соавторами (Макаровский и др., 1999; Макаровский, 2004; Макаровский и др., 2010; Макаровский и др., 2012). В публикациях проанализированы результаты применения эпидуральной электрической стимуляции спинного мозга на более чем 500 спинальных больных с тяжестью неврологических нарушений А, В, С по шкале ASIA (American Spinal Injury Association). Авторы проанализировали влияние частоты стимуляции на эффективность воздействия. Показано, что антиспастическим, анальгезирующим действием обладает как воздействие в диапазоне 12.67-77 Гц, так и 0.3-0.5 Гц. Сочетанное длительное

воздействие с частотой 0.5-1 и 12.67 Гц у больных с умеренно выраженным спастическим синдромом, а также при вялых парезах или плегии, способствует активации и расширению объема произвольных движений, восстановлению функций мочевого пузыря, улучшению периферического кровообращения конечностей.

Среди публикаций, посвященных применению эпидуральной электростимуляции спинного мозга в восстановлении двигательных функций выделяется работа Харкема с соавт. (Harkema et al., 2011). Описан случай пациента с клинически полным перерывом спинного мозга. Пациент в течение 7 месяцев получал электрическую стимуляцию L1–S1 сегментов спинного мозга (5-40 Гц) в сочетании с локомоторными тренировками на беговой дорожке в условиях внешней поддержки веса тела. В результате пациент был способен самостоятельно стоять на фоне стимуляции, облегчалась ходьба с внешней поддержкой по движущейся ленте тренажера, кроме того у пациента появились произвольные движения в различных суставах ног также на фоне стимуляции. Этот результат был воспроизведен на группе из 5 пациентов с клинически полным поражением спинного мозга, данные опубликованы в недавней работе Angeli с соавт. (2014).

Кроме того, что эпидуральная электрическая стимуляция спинного мозга является терапевтическим методом, она также применяется в клинических исследованиях (Медведев и др., 1990). Было установлено, что электростимуляция спинного мозга подавляет моносинаптические рефлексы (Hunter, Ashby, 1994; Siegfried, 1996) и облегчает деполяризацию афферентов флексорного рефлекса (Shimoji et al., 1982). Очевидно, что при интерпретации результатов исследований, полученных с применением метода эпидуральной электрической стимуляции у человека, следует делать поправку на то, что данные зарегистрированы на структуре, адаптированной к патологическому состоянию, так как по очевидным причинам метод не применим для исследования нормального спинного

мозга. Невозможно этим инвазивным методом у человека, как в экспериментах на животных, стимулировать интактный спинной мозг и таким образом исследовать спинальные локомоторные сети человека. Доказательство того, что у человека, как и у других позвоночных, существуют спинальные локомоторные сети (Dimitrijevic, Gerasimenko, Pinter, 1998), было получено на пациентах после травмы спинного мозга, после возможных адаптивных перестроек спинальных сетей. До недавнего времени оставался открытым вопрос, существуют или нет такие сети в нормальном спинном мозге, возможно ли их активировать напрямую, можно ли управлять локомоцией, воздействуя на эти сети и т.п.

Одна из задач состояла в разработке метода неинвазивного воздействия на спинной мозг, применимого для исследования локомоторной функции у человека в норме. Разработка такого метода полезна для клиники. Методически для реализации эпидуральной электрической стимуляции на твердую мозговую оболочку спинного мозга накладывают электроды, соединенные проводами со стимулятором. Стимулятор и аккумуляторную батарею помещают в тело пациента. Неинвазивная стимуляция поможет избежать проблем, связанных с хирургическим вмешательством, и проблем жизни с имплантированным стимулятором. Кроме того, существуют пациенты, которым электрическая стимуляция спинного мозга показана по их состоянию, но невозможно провести эту процедуру из-за сопутствующих заболеваний и/или социальных причин. Таким образом, поиск неинвазивных способы стимуляции спинного мозга является актуальным для клиники. Метод неинвазивной стимуляции спинного мозга человека может стать мощным инструментом в реестре методов, используемых в физиологии человека, так как он позволяет исследовать реакции спинного мозга человека в норме.

Глава 2. СЕНСОРНО-МОТОРНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СПИНАЛИЗИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ

2.1. Морфофункциональное исследование влияния локомоторных тренировок на восстановление двигательной активности у спинализированных крыс

Афферентная система играет одно из ключевых значений в организации локомоторных движений. Показано, что афферентная стимуляция как подстраивает начавшуюся локомоцию под параметры внешней среды, так и запускает локомоцию в некоторых условиях: у кошек в первые дни после полной перерезки спинного мозга механическая стимуляция промежности или основания хвоста вызывает локомоторные движения задних конечностей (Rossignol et al., 2002), а многодневные тренировки на беговой дорожке или тренажере приводят к восстановлению локомоции у таких животных (Edgerton et al., 1996; Никитин и др., 2007). Следует отметить, что не только у животных, но и у человека возможна такая активация спинальных локомоторных сетей: через много лет после травмы у пациентов с полным перерывом спинного мозга после интенсивных локомоторных тренировок появляются локомоторные движения (Calancier et al, 1994; Dietz et al., 1994).

Эти и другие убедительные экспериментальные факты, доказывающие возможность активировать спинальные локомоторные сети в отсутствии супраспинальных связей, получены в электрофизиологических и поведенческих экспериментах. Для полноты картины не хватает данных о том, какие изменения происходят в структуре спинальных локомоторных сетей в ответ на афферентную стимуляцию. Задачей этого этапа работы было выявить реакцию нейронов и межнейронных связей на афферентное воздействие. Такое морфофункциональное исследование, во-первых, позволит выявить, какие структуры спинного мозга вовлечены в реализацию интегративных механизмов управления спинальными локомоторными сетями, во-вторых,

даст возможность прогнозировать результативность и сохранность эффекта локомоторных тренировок – активно применяемого инструмента нейрореабилитации двигательных нарушений. Задача состояла в проведении морфофункционального исследования на спинализированных животных для того, чтобы соотнести изменения в особенностях локомоции, которые наблюдаются в ответ на стимуляцию афферентов, с изменениями в структуре спинного мозга. До сих пор таких данных не было. Особое внимание было уделено исследованию участия опорных реакций в инициации движений.

2.1.1. Материалы и методы

Подготовка животных к экспериментам. Эксперименты выполнены на взрослых самках крыс линии Sprague-Dawley массой 200-220 г. Все манипуляции с животными осуществлялись в соответствие с законом "О защите животных от жестокого обращения" гл. IV, ст. 10, 4679/11 ГК от 01.12.1999". Хирургической операции предшествовал двухнедельный период адаптации животных. Под наркозом после разреза мягких тканей на дорзальной стороне позвоночника проводили ламинэктомию на уровне позвонков Th 9-11. Спинной мозг перерезали полностью. Останавливали кровотечение, рану ушивали. Животных по одному помещали в подогреваемые клетки. Первые 5 дней после операции крысам опорожняли мочевой пузырь, надавливая на брюшную стенку, при появлении признаков воспаления вводили гентамицин (40 мг/кг в.м., дважды в день). В поздние послеоперационные сроки эти мероприятия проводили по необходимости. Воду и пищу (стандартный сухой корм) животные получали без ограничений.

Дизайн исследования. Тренировки на бегущей дорожке. Экспериментальную группу составили животные, которых через сутки после операции начинали тренировать на бегущей дорожке (тредбане) шириной 10 см, длиной 60 см, ограниченной с двух сторон пластинами из

прозрачного пластика; скорость ленты составляла ~9 м/с. Животных помещали на движущуюся ленту и следили, чтобы они активно двигались по ленте в сторону, противоположную направлению движения ленты, при необходимости стимулировали, мягко подталкивая крысу вперед по направлению движения, и/или незначительно уменьшали скорость движения дорожки. Первые дни после спинализации крыс поддерживали за основание хвоста. Тренировки проводил 5 раз в неделю в первой половине дня. Длительность каждой из них постепенно возрастала от 30 сек (в первые дни) до 10 мин (обычно с третьей недели после операции). Животных контрольной группы после перерезки спинного мозга на тредбане не тренировали.

Еженедельно измеряли массу тела крыс для контроля их физического состояния.

Контроль восстановления двигательных функций проводили с использованием бегущей дорожки. Крыс сначала обследовали, взяв из клетки, поддерживая за плечевой пояс так, чтобы задние конечности свисали, после исследования движений на стимуляцию промежности, опорных поверхностей стоп и основания хвоста, крыс помещали на бегущую дорожку без компенсации веса тела и наблюдали в течение 10 мин за произвольными движениями задних конечностей. Была разработана 5-балльная шкала (Moshonkina et al., 2002). Оценивали подвижность задних конечностей (каждой лапы отдельно): 0 – абсолютно неподвижные расслабленные лапы; 1 – движения обеих конечностей во время стимуляции промежности; 2 – лапа неподвижна, бедро постоянно подтянуто к туловищу; 3 – бедро отведено от туловища, отдельные движения во всех суставах; 4 – ритмичные шагоподобные движения обеих конечностей после стимуляции стопы или основания хвоста; 5 – толчковые (прыгательные) движения во время побежки на тредбане. Животных тестировали еженедельно на протяжении всего эксперимента (до 9 недель).

Для проверки участия опорной поверхности стоп в инициации движений задних конечностей у спинализированных животных, в день последнего тестирования животных опускали в бассейн с теплой водой ($\sim 40^{\circ}\text{C}$), наблюдали за движениями задних конечностей.

Гистологическое исследование проводили через 9 недель после спинализации. После анестезии парами эфира у крыс выделяли грудной и поясничный отделы спинного мозга, фиксировали в жидкости Буэна, заливали в парафин. Изготавливали как продольные, так и поперечные срезы спинного мозга толщиной 10 мкм, окрашивали толлюидиновым синим по методу Ниссля, проводили светооптическое исследование рубца, дистального и проксимального конца перерезанного спинного мозга.

Анализировали результаты, полученные на животных, у которых последующий морфологический анализ спинного мозга показал уровень перерезки – Th 9-10 и протяженность рубца не менее 1 сегмента, что полностью подтверждает изоляцию дистального отрезка спинного мозга.

2.1.2. Результаты и обсуждение

Функциональное состояние и моторная активность крыс после операции. Было обнаружено, что масса тела экспериментальных крыс больше массы тела животных контрольной группы, хотя отличия не достоверны. Возможно, что причина этого состоит в приросте мышечной массы вследствие тренировок у крыс экспериментальной группы.

Локомоторные возможности задних конечностей после спинализации и тренировки. У крыс обеих групп после травмы появлялись движения задних конечностей, отличия между группами состояло в сроках появления движений и в качестве этих движений (Рисунок 2.1).

Группа контроля (n=5)

Недели	МИНИМУМ	25 ПРОЦЕНТИЛЬ	МЕДИАНА	75 ПРОЦЕНТИЛЬ	МАКСИМУМ
1	0	0	0	0	0
2*	0	0	0	0	0
3*	0	0	0	1	2
4*	0	0	0,5	1,75	3
5*	0	0	0	1	2
6*	0	0	1	2	2
7*	0	0,75	1,5	2,25	3
8	1	2	2	2,25	3
9*	1	1,75	2	2,25	5

Экспериментальная группа (n=7)

Недели	МИНИМУМ	25 ПРОЦЕНТИЛЬ	МЕДИАНА	75 ПРОЦЕНТИЛЬ	МАКСИМУМ
1	0	0	0	0	1
2	0	0,25	2	2	2
3	0	0,25	2	3	4
4	0	1,25	3	3	4
5	0	2,75	3,5	4	4
6	0	2,75	4	4	5
7	2	2,5	4	4	5
8	2	2,5	4	4,75	5
9	2	3,25	4	4,75	5

Рис. 2.1. Цветовая диаграмма динамики проявления двигательных функций задних конечностей крыс в зависимости от сроков после спинализации. В ячейках – баллы по шкале, см. Методы. Слева – недели после операции. * - значимые различия между группами, критерий Манна-Уитни.

У крыс экспериментальной группы движения были выявлены начиная с 1-ой недели после операции, контрольной – начиная с 3-ей недели. У крыс контрольной группы, как правило, наблюдали рефлекторные движения обеих конечностей при стимуляции промежности (1 балл), имеющие сомато-висцеральную природу, только у одного животного в последние 2 недели регистрировали отдельные произвольные движения задних лап во всех суставах (3 балла) и в последнюю неделю – прыгательные движения левой лапы (5 баллов). У крыс экспериментальной группы эти типы движений наблюдали значительно раньше, и только в этой группе были зарегистрированы координированные шагоподобные движения двух конечностей (4 балла). Прыгательные движения (5 баллов), которые можно считать проявлением восстановления функции поддержки веса тела, зарегистрированы в экспериментальной группе после 5 недель тренировок. Результаты, полученные в экспериментальной и контрольной группах отличаются с вероятностью $p < 0.05$, начиная со второй недели после спинализации.

Тестирование в бассейне показало, что стимуляция опорной поверхности стоп у спинализированных животных является триггером для запуска движений (Рисунок 2.2). После всех недель тренировок ни у одного из животных не возникали движения задних конечностей в воде, без опоры.

При тестировании в открытом поле или на любой другой поверхности контакт стоп с опорой запускает движения.

Спинализированная крыса, после 9 недель тренировки



Интактная крыса



Рис. 2.2. Положение задних конечностей крыс в бассейне с водой, демонстрирующее отсутствие движений у спинализированных животных и активные движения у интактных животных.

Гистологический анализ спинного мозга выявил наличие сформированного грубого глио-соединительно-тканного рубца, занимавшего не менее 1 сегмента спинного мозга, состоявшего из шванновских клеток, астроцитов многочисленных фибробластов и коллагеновых волокон. У контрольных животных в дистальном отделе перерезанного спинного мозга обнаружены в большом количестве клетки с признаками сморщивания и склероза (Рисунок 2.3). Нейроны передних рогов у экспериментальных животных выглядели жизнеспособными, они были значительно **больших** размеров в сравнении с аналогичными нейронами контрольных животных, контуры клеток округлые, свойственные нейронам спинного мозга интактных животных и клеткам, которые наблюдали выше места перерезки (Рисунок 2.3). Структура клеток сходна со структурой клеток интактных животных: границы клеток

округлые, ядра светлые, расположенные в центре клетки, в цитоплазме наблюдается огрубение нисслевского вещества.

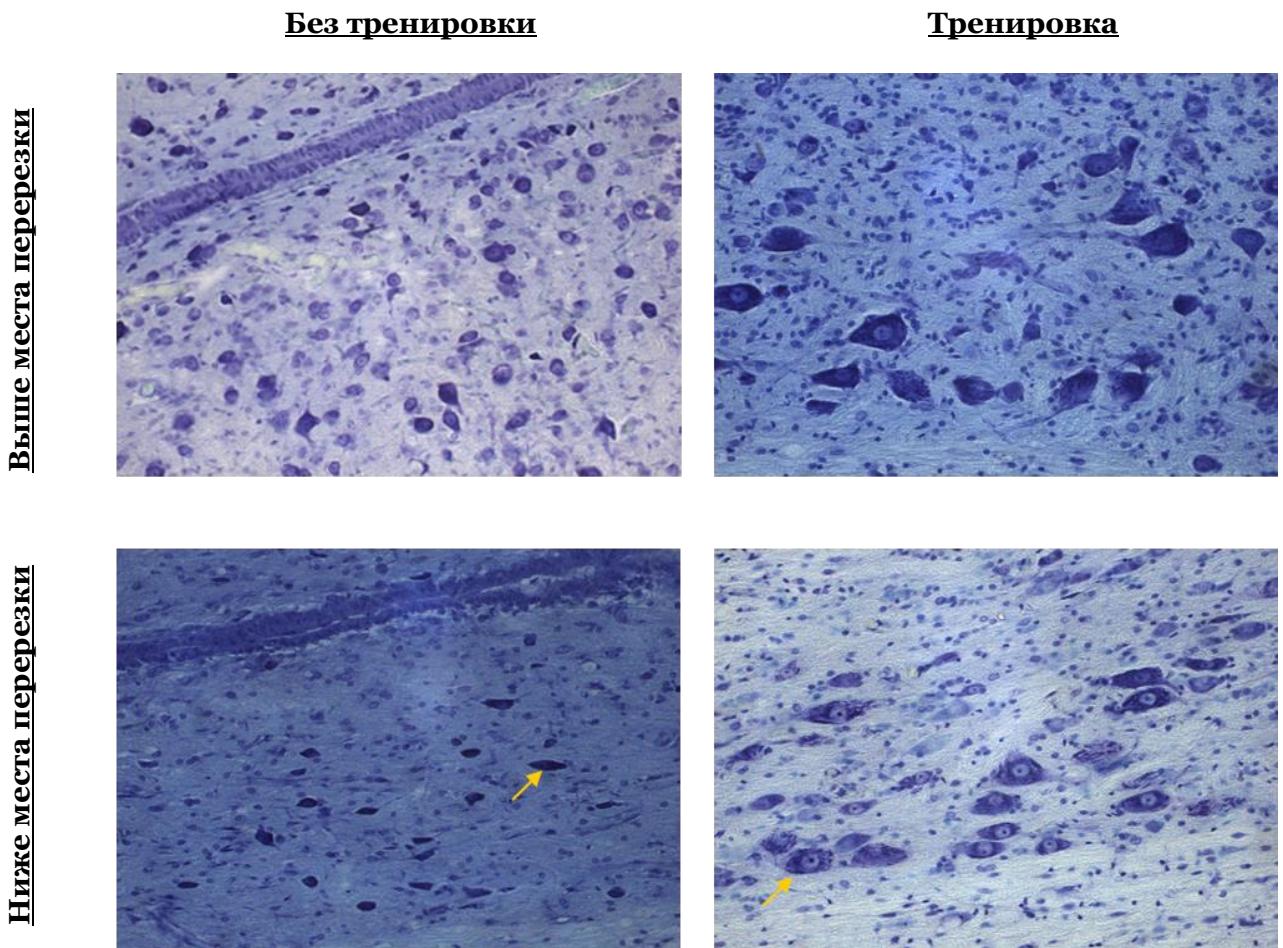


Рисунок 2.3. Нейроны передних рогов дистального отдела спинного мозга через 9 недель после перерезки. Ув.: об. 20, ок. 10. Стрелки показывают на склеротизированный (слева) и жизнеспособный (справа) нейроны. По (Мошонкина и др., 2004; Гилерович и др., 2007).

Таким образом, стимуляция афферентов способствует восстановлению собственных локомоторных функций изолированного дистального участка спинного мозга и это сочетается с морфологически сохранной структурой его мотонейронов. Вероятно, что при тренировке на бегущей дорожке происходит афферентная стимуляция изолированной части спинного мозга посредством активации проприоцептивной и тактильной системы. На крысах показано, что систематическое увеличение двигательной активности приводит к синтезу ряда

нейропептидов, которые, в свою очередь, вовлекаются в контроль функциональной и морфологической адаптации (Gharakhanlou et al., 1999).

Проведенное исследование двигательной активности крыс показало, что двигательная тренировка на тредбане приводила к появлению движений задних конечностей и частичному восстановлению функции поддержки веса тела. Морфологическое исследование поясничного утолщения спинного мозга этих же животных, позволило выявить реорганизацию нейронов в дистальном отделе перерезанного спинного мозга. У тренированных животных наблюдается нормализация структуры мотонейронов.

Как показали эксперименты в бассейне, раздражение стопы является ключевым моментом для запуска движений задних конечностей в отсутствии супраспинальных влияний. Вероятно, это можно наблюдать только при полной изоляции дистального участка спинного мозга: известно исследование на крысах с частичным повреждением спинного мозга, у них спонтанно восстановленные после травмы движения у нетренированных крыс были такими же, как и у крыс, которых тренировали (Fouad et al., 2000).

Таким образом, впервые на спинализированных крысах проведено морфофункциональное исследование. Показано, что восстановление локомоции в ответ на длительную стимуляцию афферентов коррелирует с изменениями в структуре дистального отдела спинного мозга. Показано, что дистальный отдел спинного мозга обладает механизмами, способными в ответ на афферентную стимуляцию индуцировать локомоторную активность после разобщения с головным мозгом. Раздражение рецепторов опорной поверхности стоп может запускать локомоторные движения у спинализированных животных. Тренировка на тредбане способствует восстановлению автономных локомоторных механизмов изолированного дистального участка спинного мозга, что сочетается с морфологически сохранной структурой его мотонейронов.

Основываясь на полученных результатах, на следующем этапе исследований

- поменяли тип тренировок, сделав обязательной контролируемую стимуляцию опорной поверхности стопы во время каждого локомоторного цикла,
- часть крыс деафферентировали, предполагая, что это ухудшит восстановление локомоторных движений,
- изменили способ оценки восстановления двигательной активности, выбрав шкалу, которая детально учитывает способность животного совершать отдельные фазы шагательного цикла.

2.2. Морфофункциональное исследование влияния локомоторных тренировок на восстановление двигательной активности у деафферентированных спинализированных крыс

В этой части исследования фокус интереса был направлен на определение роли опорных реакций в регуляции спинальной локомоции. Регистрировали и анализировали восстановление локомоции у спинализированных животных, постоянно лишенных афферентного притока от поверхности стопы.

Известно, что в клинике блокаду n. suralis используют для транзиторной анестезии пятоногой поверхности (Рисунок 2.4.А). В обзоре Duysens et al. (2000) обсуждается участие икроножного нерва в функции поддержки веса тела и, в связи с этим, в регуляции походки и позы. В частности, он отмечает, что активность в n. suralis максимальная сразу после того как стопа прикасается к опоре.

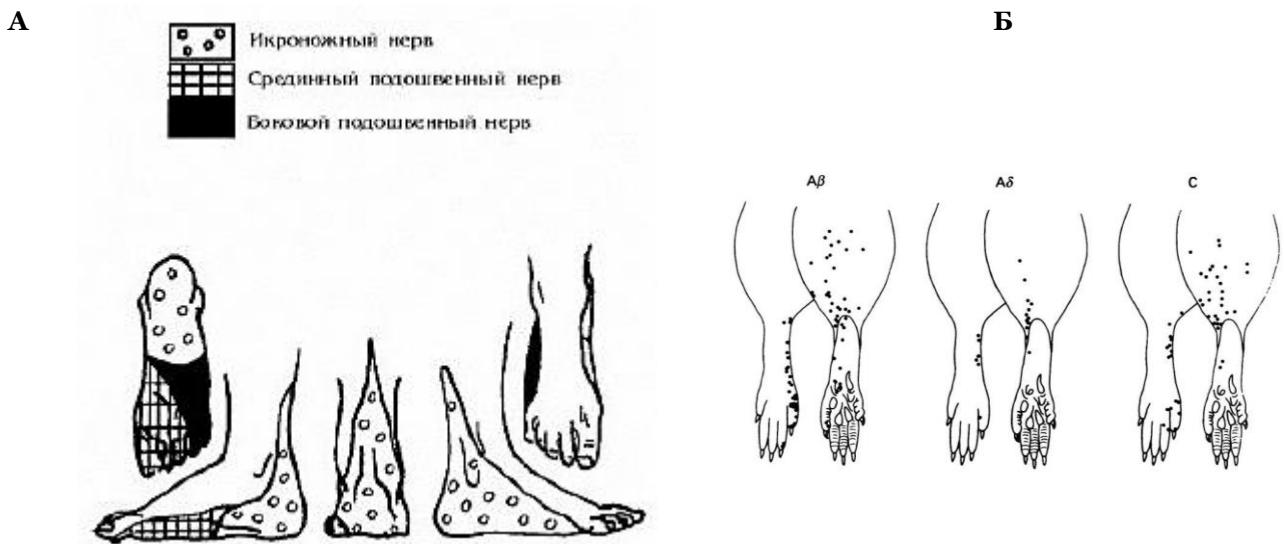


Рис. 2.4. А. Схема проводниковой анестезии стопы (по McCormick, 1999), блокада n. suralis (икроножный нерв) приводит к анестезии пятонной части стопы. Б. Распределение центров рецептивных полей n. suralis у крысы A β , A δ и С волокон (по Handwerker et al., 1991).

Была разработана экспериментальная модель хронической спинализированной крысы с необратимой деафферентацией стоп (билиатеральная перерезка n. suralis). У крыс центры рецептивных полей также присутствуют в пятонной области (Рисунок 2.4Б).

Также провели гистологические исследования спинного мозга с использованием методов классической оптической микроскопии для того, чтобы исследовать изменения в мотонейронах и ядрах чувствительных нервов.

2.2.1. Материалы и методы

Подготовка животных к экспериментам. Животные, и их содержание, и подготовка к исследованиям те же, что описаны в разделе 2.1. Дополнительно одновременно со спинализацией проводили билиатеральную перерезку n. suralis. На дорсальной поверхности задних конечности, в подколенной области делали разрез кожи, тупым способом разводили мышцы, изолировали n. suralis и делали поперечный разрез, восстанавливали положение мышц, ушивали кожу. Животные были разделены на четыре группы.

1. Перерезка спинного мозга + билатеральная перерезка n. suralis (Днрв-Сп)
2. Перерезка спинного мозга + интактные nn. surali на обеих конечностях (Сп).
3. Интактный спинной мозг + билатеральная перерезка n. suralis.
4. Интактный спинной мозг + интактные nn. surali на обеих конечностях.

Тренировки в системе с компенсацией веса тела. Через сутки начинали тренировки крыс первой и второй групп на беговой дорожке. Тренировки проводили в системе с компенсацией веса тела и стимуляцией опорной поверхности стоп. Было сконструировано простое устройство: крысу помещали в гамачок, все конечности при этом были свободны, гамачок подвешивали, можно было регулировать положение конечностей относительно горизонтальной поверхности. Это устройство размещали над движущейся лентой (Рисунок 2.5). В процессе тренировки экспериментатор переставлял задние конечности животного по движущейся ленте, воспроизводя движения, повторяющие нормальный цикл шага, т.е. с плантарной постановкой задних лап на опору. Тренировки проводили 5 раз в неделю, по 15 мин, на протяжении 6 недель.

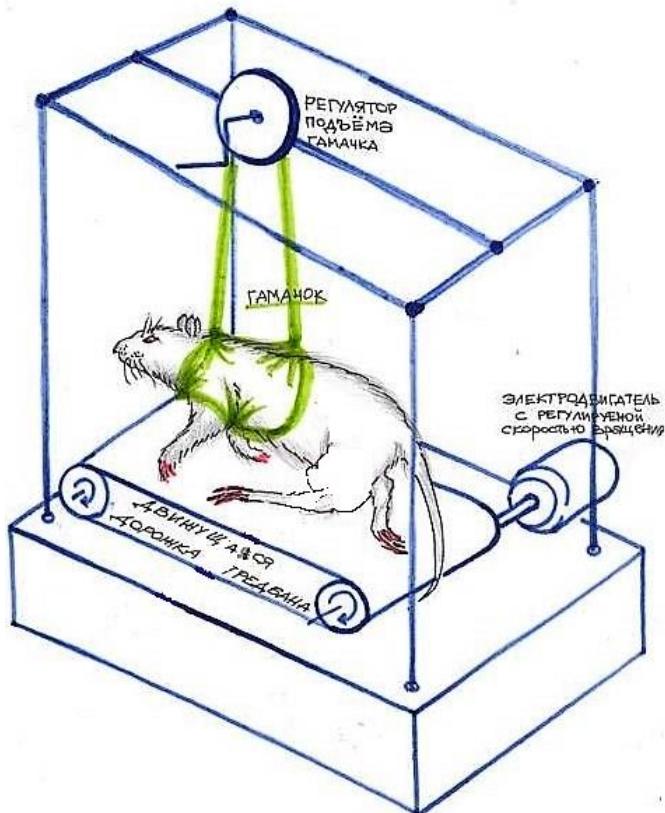


Рис. 2.5. Схема устройства для тренировки крыс в системе с компенсацией веса тела.

Контроль восстановления двигательных функций изменили, так как характер движений был сложнее, чем учитывала шкала, движения у животных после спинализации и тренировки восстанавливались в большем объеме, чем мы исходно предполагали.

Тестирование в открытом поле. Была использована локомоторная шкала, разработанная для оценки восстановления подвижности задних конечностей и функции поддержки веса тела у крыс после компрессионной травмы спинного мозга, так называемая *BBB-шкала* (Basso, Beattie, Bresnahan, 1995). Тестирования проводили еженедельно в соответствии с инструкцией (см. Приложение 1).

Через шесть недель после даты спинализации животных брали на электрофизиологические и гистологические исследования.

Гистологическое исследование проводили так же, как описано в разделе 2.1. Делали поперечные срезы спинного мозга ниже места перерезки у крыс всех экспериментальных групп, для анализа также брали

спинальные ганглии. Препараты исследовали под световым микроскопом фирмы Leica (Германия).

2.2.2. Результаты и обсуждение

Результаты тестирования двигательной активности животных представлены на Рисунке 2.6. Баллы по ВВВ-шкале отражают степень восстановления локомоторных возможностей задних конечностей: чем больше баллов, тем ближе движения к движениям интактных животных. Максимум 10 баллов, соответствующий определению «периодическая плантарная постановка стопы с поддержкой веса тела во время ходьбы» был достигнут только в группе спинализированных крыс (Сп). Максимум в группе денервированных-спинализированных крыс (Днрв-Сп) – 9 баллов, это – «плантарная постановка стопы в состоянии спокойной стойки или постановка стопы на тыльную поверхность с поддержкой веса тела во время ходьбы». Таким образом, ни у одной из денервированных крыс не была зарегистрирована фаза опоры во время локомоции. На цветовых диаграммах заметна намечающаяся тенденция к ухудшению восстановления опорных функций у деафферентированных животных после 4 недель тренировки.

График изменения медиан в группах, представленный внизу Рисунка 2.6, демонстрирует отсутствие положительной динамики восстановления локомоторных движений в группе Днрв_Сп. Через 6 недель после спинализации локомоторные оценки в группе Днрв_Сп достоверно меньше, чем в группе Сп ($p < 0.05$).

Сп (n=7)

Недели	МИНИМУМ	25 ПРОЦЕНТИЛЬ	МЕДИАНА	75 ПРОЦЕНТИЛЬ	МАКСИМУМ
1	0	0	1	1	1
2	1	1	2	3	4
3	0	1,5	3,5	8,5	10
4	2	3,25	5,5	7,75	8
5	1	2	6	9	9
6*	2	4	7	8	10

Днрв_Сп (n=9)

	МИНИМУМ	25 ПРОЦЕНТИЛЬ	МЕДИАНА	75 ПРОЦЕНТИЛЬ	МАКСИМУМ
	0	0	0	1	1
	0	0	1	4	7
	0	0	2	3	8
	1	1	3	4	8
	0	1,5	3	5	7
	0	0,25	2,5	6,25	9

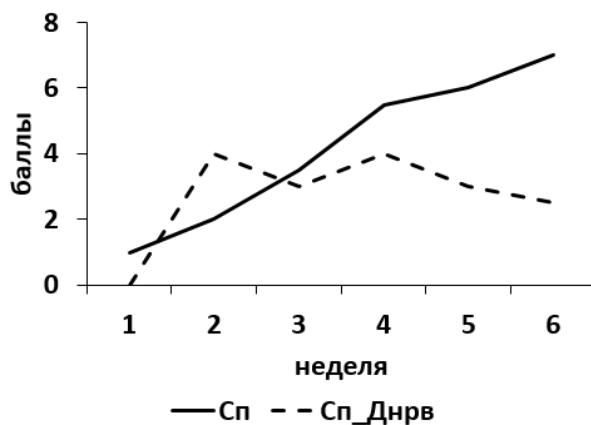


Рис. 2.6. Вверху - цветовые диаграммы, представляющие результаты обследования двигательной активности тренированных спинализированных (Сп) и спинализированных денервированных (Сп_Днрв) крыс. В ячейках – баллы по ВВВ-шкале, см. Методы. Слева – недели после операции. * - значимые различия между группами, критерий Манна-Уитни. Внизу – изменение медианы.

Морфологические исследования сегментов спинного мозга Th13-L4 были начаты с исследований мозга животных с интактным спинным мозгом и билатеральной денервацией n. suralis (Днрв). У них были обнаружены значительные изменения в спинном мозге: увеличение количества глиальных клеток (gliоз) в дорсальных рогах серого вещества, гиперхромные нейроны в I-V пластинках Рекседа, единичные повреждения нейронов VII пластинки и мотонейронов (IX пластинка) (Рисунок 2.7). У крыс группы Днрв были обследованы спинномозговые ганглии и обнаружены отечные нейроны и нейроны, измененные по типу хроматолиза (Рисунок 2.8).

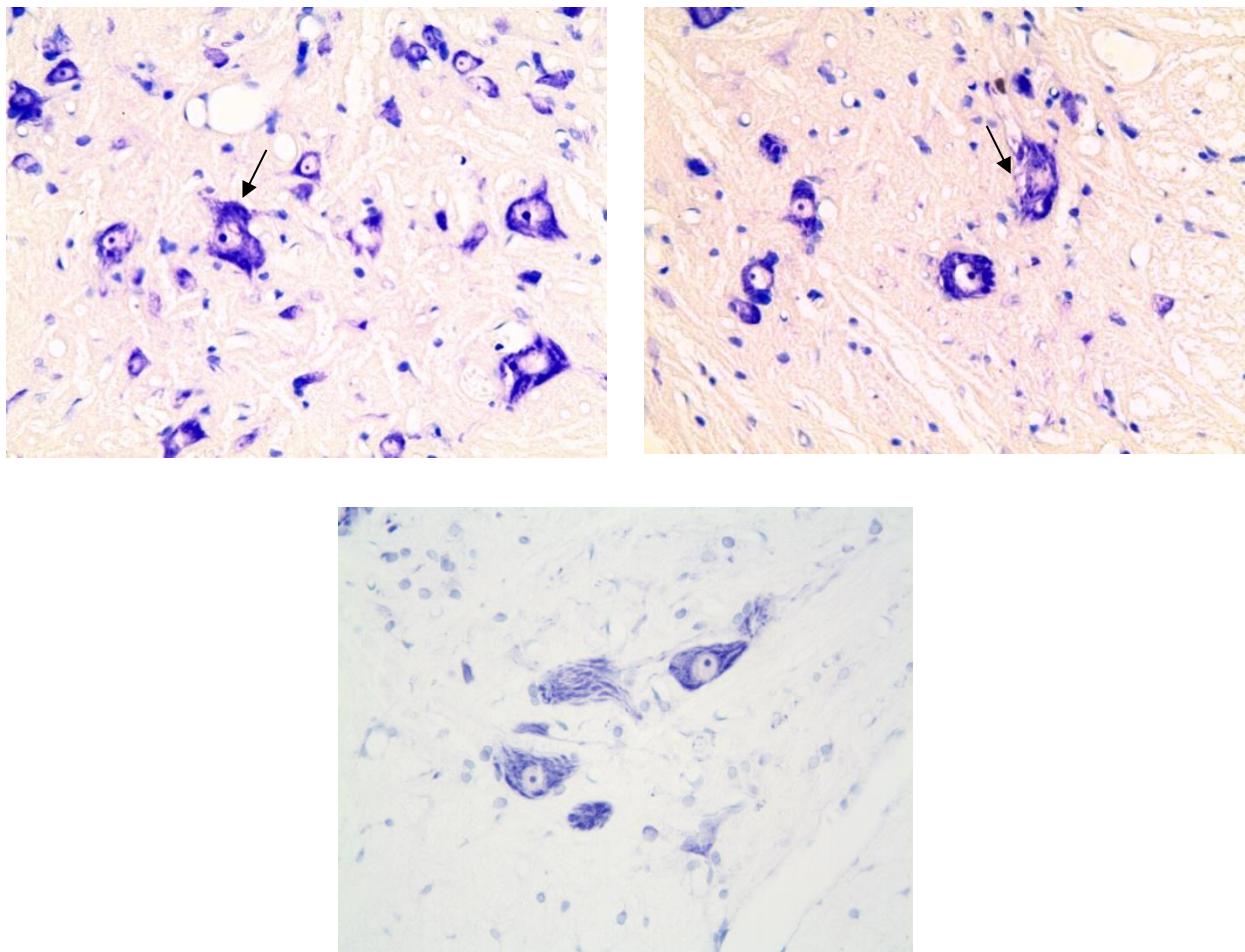


Рис. 2.8. Вверху слева: поврежденный нейрон с вакуолями в ядре у крысы Днрв группы; сегмент L3. VII пластиинка Рекседа. Вверху справа: поврежденный мотонейрон с вакуолями в цитоплазме у крысы Днрв группы; сегмент L3. IX пластиинка Рекседа. Внизу: интактный спинной мозг, сегмент L3. IX пластиинка Рекседа. Окраска по Нисслю. Ув. ок.x10; об.x40

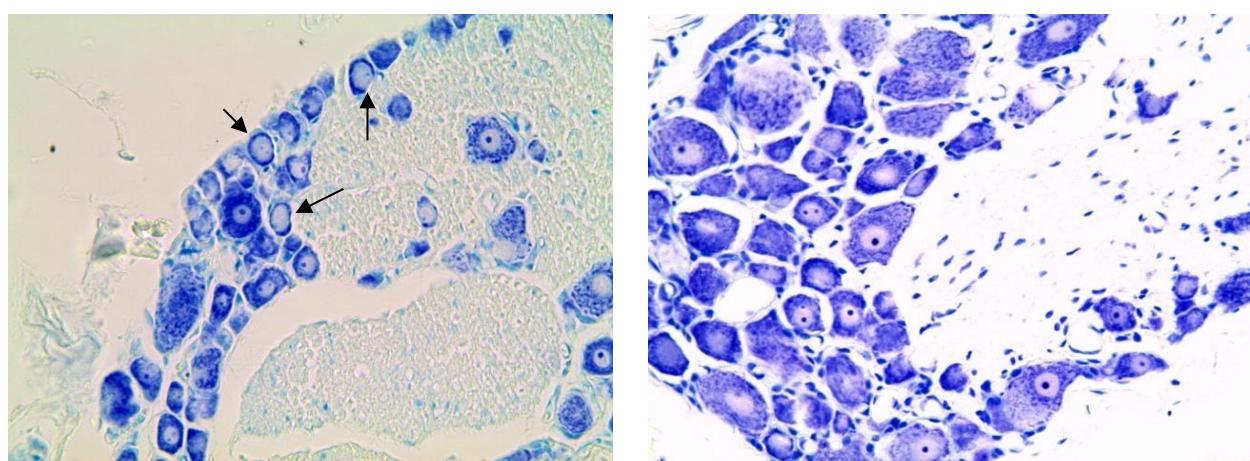


Рис. 2.8. Слева: нейроны спинномозгового ганглия, измененные по типу хроматолиза у крыс Днрв группы. Справа: спинномозговой ганглий у крысы группы Инт. Окраска по Нисслю. Ув. ок.x10; об.x40

Сравнение поперечных срезов спинного мозга крыс группы Днрв-Сп и Сп выявило следующее. У деафферентированных крыс наблюдается заметно больший глиоз в дорсальных рогах серого вещества и в белом веществе дорсальных столбов в области пирамидного тракта по сравнению со спинальными крысами. Глиальная реакция выражена в поверхностных пластинках спинного мозга (I-II пластинки Рекседа), в III пластинке и в шейке дорсального рога (IV пластинка Рекседа); в сегментах Th13-L1 глиальная реакция выражена интенсивнее, чем в L4 сегменте. Поврежденные нейроны встречаются как у крыс группы Днрв-Сп, так и Сп крыс. Увеличение количества поврежденных нейронов у Днрв-Сп крыс заметно во II-III пластинках (единичные гиперхромные нейроны малого размера) и в IV-V пластинках, в основном в латеральной части (гиперхромные нейроны среднего размера); в VII пластинке встречаются гиперхромные нейроны среднего размера и поврежденные крупные нейроны. У Днрв-Сп крыс в спинномозговом ганглии, расположенном на уровне L2, видны отечные нейроны и заметно увеличение количества глиальных клеток так же, как и у денервированных крыс с интактным спинным мозгом.

Таким образом, большинство морфологических изменений в спинном мозге у крыс группы Днрв-Сп вызвано его перерезкой. Обнаруженная нами глиальная реакция в дорсальных рогах спинного мозга и в области пирамидного тракта, возможно, обусловлена гибелю части нейронов в связи с отсутствием афферентации. Изменения нейронов спинномозговых ганглиев, нейронов VII пластинки и некоторых мотонейронов, вызванные денервацией, могут быть причиной изменений восстановления локомоторных функций.

Итак, деафферентация замедляет восстановлений локомоции после спинализации и последующей локомоторной тренировки – такой результат был также получен в экспериментах на кошках (Bouyer, Rossignol, 2003).

У кошек билатеральная перерезка чувствительных кожных нервов на задних лапах приводила к незначительному локомоторному дефициту, который компенсировался через несколько недель. Потом, после деафферентации, этим же кошкам полностью перерезали спинной мозг и тренировали на тредбане в течение 35 дней. Несмотря на то, что в мышцах бедра и голени у этих животных регистрировали нормальную электрическую активность, экстензоры и флексоры голеностопа были одновременно активны во время фазы опоры, что является патологическим признаком и функционально проявлялось в отсутствии постановки лапы на опорную поверхность стопы. Именно такой результат был получен и в нашем исследовании – у деафферентированных крыс после тренировок восстанавливалась локомоторная ритмика, но не восстанавливалась плантарная постановка задних лап во время ходьбы.

Таким образом, показано, что в отсутствии супраспинальных влияний аfferенты продолжают участвовать в регуляции локомоторной активности, влияя прежде всего на фазу опоры при ходьбе, то есть определяя устойчивость во время локомоции и готовя последующую фазу переноса. Этот результат дополняет полученный нами ранее результат – выявление триггерной функции опорных реакций при спинальной локомоции. Следовательно, сенсорно-моторная регуляция, реализованная на уровне спинного мозга, состоит в генерации ритмики спинальными локомоторными сетями, а со стороны кожных аfferентов и рецепторов опоры – в инициации этой ритмики, в обеспечении позы при ходьбе и в подготовке фазы переноса конечности. Кроме фундаментального значения наш результат имеет существенный прикладной вывод – при реабилитации двигательных нарушений, адресованной к спинальным механизмам локомоции, необходимо активировать не только спинальные центры, но одновременно стимулировать кожные аfferенты и рецепторы опоры.

Глава 3. СЕРОТОНИНЭРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ У СПИНАЛИЗИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ

Ранее было показано, что серотонинергическая система играет важную роль в локомоторном контроле: агонисты этой системы у спинальных животных не вызывают шагательные движения, но усиливают у таких животных локомоторную активность, вызванную другим способами (Barbeau, Rossignol, 1990; Chauet et al., 1998; Feraboli-Lohnherr et al., 1998; Fong et al., 2005; Gerasimenko et al., 2007; Musienko et al., 2011). Хорошо известно, что, с одной стороны, серотонинергическая система является одной из самых древних нейротрансмиттерных систем, с другой стороны, серотонинергические нейроны в подавляющем большинстве находятся в структурах головного мозга (Parent, 1984). Инициальные нейроны расположены в ядрах шва головного мозга, их аксоны через проводящие пути достигают клеток серого вещества спинного мозга. В дорсальных рогах интактного спинного мозга серотонинергические бутоны ядер шва проецируются исключительно на мелкие нейроны пластинок I и II, где располагаются рецепторы серотонина (Ridet et al., 1994). Есть две работы, в которых показано, что после полной перерезки проводящих путей в дистальном отделе спинного мозга остается, по разным данным, от 2 до 15% серотонина, который выделяется нейронами собственной серотонинергической системы спинного мозга, расположенными в пластинках VII и X исследуемых отделов (Newton, Hamill, 1988; Schmidt, Jordan, 2000). Однако эти данные никто не смог воспроизвести, следовательно, существование собственной серотонинергической системы остается под сомнением.

Очевидно, что после утраты связей с головным мозгом, серотонин-активные клетки спинного мозга резко снижают активность и добавление агонистов серотонинергической системы должно заместить для этих клеток утраченные связи. В экспериментах со спинализированными мышами

было показано, что активация серотонинергической системы в сочетании с локомоторными тренировками (афферентная стимуляция) значительно облегчает и ускоряет у спинальных животных восстановление двигательных функций после повреждения спинного мозга (Fong et al., 2005). Авторы этой работы исследовали восстановление бипедальной локомоции у мышей, помещая животных в специальную подвеску; при этом под их задними лапами двигалась бегущая лента, передние конечности были приподняты над опорой. Такое расположение животного обеспечивало поддержание позы и непрерывную стимуляцию опорной поверхности стоп задних конечностей. В этой же системе проводили и локомоторную тренировку. Мы в своих исследованиях запланировали отчасти повторить эти эксперименты, так как используем поведенческие тесты, но и применить дополнительные методы исследования. Нашей задачей было морфофункциональное изучение роли серотонинергической системы в афферентном контроле функции поддержания веса тела и организации локомоции на модели хронических спинализированных крыс. Как и в предыдущих экспериментах, описанных в Главе 2, на одной группе животных мы сочетали поведенческие тесты и гистологические исследования. В отличие от цитированной работы Fong et al. (2005) мы, если тренировали животных, то применяли для тренировок естественную для крыс квадрипедальную локомоцию, а также тестировали восстановление квадрипедальной, а не бипедальной локомоции. Для увеличения надежности полученного результата мы в двух разных экспериментах использовали два разных способа активации серотониновых рецепторов нейронов изолированного отдела спинного мозга: стимулировали продукцию серотонина структурами головного мозга, что приводило к увеличению концентрации серотонина в цереброспинальной жидкости, в другом эксперименте – системно вводили агонисты серотониновых рецепторов.

3.1. Эффекты транскраниальной стимуляции на двигательное поведение спинализированных крыс

Ранее экспериментально было доказано, что у крыс транскраниальная электростимуляция (ТЭС) вызывает увеличение серотонина в цереброспинальной жидкости (Лебедев и др., 1995). Мы предположили, что ТЭС, увеличивая концентрацию серотонина в цереброспинальной жидкости, может способствовать восстановлению движений обездвиженных конечностей при хроническом поражении спинного мозга. Для проверки гипотезы о влиянии активации серотониновых рецепторов на спинальные локомоторные сети было проведено пилотное исследование на небольшой группе спинальных крыс. Животных не тренировали.

3.1.1. Материалы и методы

Подготовка животных к экспериментам. Животные, и их содержание, и подготовка к исследованиям те же, что описаны в разделе 2.1.

Транскраниальная электростимуляция. ТЭС начинали на третий день после перерезки спинного мозга. ТЭС состояла в стимуляции с силой тока 0,7 мА, с частотой биполярных импульсов 70 Гц равных амплитуд, длительностью основного импульса 3,5 мсек и поддерживающего, противоположной полярности длительностью 10,9 мсек, курсом по 30 мин, 3 раза в неделю, на протяжении 6 недель. Использовали именно те параметры ТЭС, которые, как было показано ранее (Лебедев и др., 1995) приводят к увеличению уровня серотонина в ликворе у крыс. Животным экспериментальной и контрольной групп ($n=3$ в каждой группе) производили одинаковые подготовительные манипуляции: предварительную седацию, частичную иммобилизацию в станке и введение подкожных игольчатых электродов (один раздвоенный электрод располагали за ушами, другой – в области лба). Стимулировали только экспериментальных животных.

Контроль восстановления двигательных функций проводили еженедельно по ВВВ-шкале.

3.1.2. Результаты и обсуждение

Влияние ТЭС на двигательные способности в отсутствии супраспинальных влияний.

Динамика изменений локомоторных возможностей крыс после спинализации показана на Рисунке 3.1. Через шесть недель после перерезки спинного мозга у крыс без электровоздействия (-ТЭС) оценки по ВВВ-шкале варьировали от «1» (слабые движения одного или двух суставов) до «3» (значительные движения в двух суставах). В эти же сроки у крыс с электровоздействиями (+ТЭС) оценки по ВВВ-шкале варьировали от «3» до «7» (значительные движения во всех трех суставах задней конечности). В контрольной группе увеличение подвижности задних конечностей достигало максимума на 2-ой неделе после перерезки спинного мозга, к 6-ой неделе наблюдалось недостоверное уменьшение подвижности задних конечностей. В основной группе регистрировали непрерывное увеличение подвижности задних конечностей, не остановившееся к 6-ой неделе. Достоверность увеличения подвижности задних конечностей в экспериментальной группе по сравнению с контрольной группой на 6-ой неделе после перерезки спинного мозга доказана с помощью критерия Вилкоксона ($p < 0,05$).

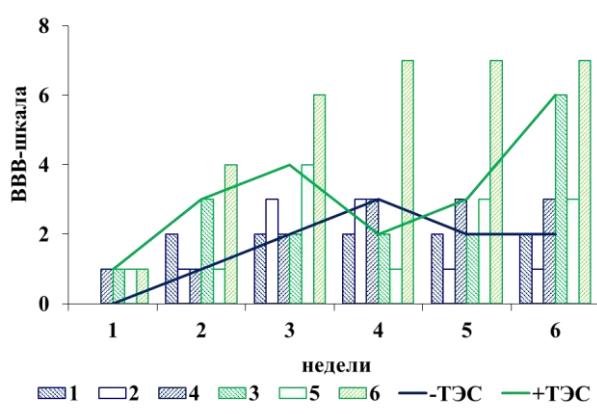


Рис. 3.1. Изменение локомоторной активности крыс, определенной с помощью ВВВ-шкалирования, после спинализации в основной (+ТЭС, №№ 3, 5, 6) и экспериментальной (- ТЭС, №№ 1, 2, 4) группах животных. Индивидуальные значения показаны гистограммами, медиана в группе – линией. По горизонтальной оси – недели после операции.

Таким образом, ТЭС-терапия достоверно увеличивала подвижность задних конечностей у крыс с хроническим поражением спинного мозга на нижнегрудном уровне. Можно предположить, что такой результат связан с увеличением концентрации серотонина в цереброспинальной жидкости.

3.2. Влияние квипазина на регуляцию двигательной активности спинализированных крыс. Морфологический анализ эффектов активации серотонинергической системы

Для выяснения роли серотонинергической системы в организации локомоции нами проведено морффункциональное исследование на большой группе спинализированных крыс. Животных тренировали. Использован стандартный неселективный агонист рецепторов серотонина – квипазин.

3.2.1. Материалы и методы

Подготовка животных к экспериментам. Животные, и их содержание, и подготовка к исследованиям те же, что описаны в разделе 2.1.

Дизайн исследования. Животные были разделены на 4 группы.

1-ая группа, Сп, n=8. После перерезки спинного мозга не тренировали и не вводили квипазин.

2-ая группа, Сп-Квип, n=9. После перерезки спинного мозга вводили квипазин, не тренировали.

3-ья группа, Сп-Тр, n=11. После перерезки спинного мозга тренировали без введения квипазина.

4-ая группа, Сп-Тр-Квип, n=14. После перерезки спинного мозга тренировали, вводили квипазин.

Введение квипазина начинали через сутки после операции, 0,3 мг/кг, внутрибрюшно, 5 раз в неделю, в течение 6 недель. Эта доза была выбрана, т.к. в доза-зависимом исследовании влиянии квипазина на

восстановление локомоторной функции у крыс было показано, что 0.3-0.4 мг/кг внутрибрюшно оказывает наилучший эффект (Ichiyama et al., 2008). При этом в другом доза-зависимом исследовании влияния квипазина на кардиоваскулярную систему было показано, что эффект проявляется при дозах больше 0.3 мг/кг (Alper, Snider, 1987).

Тренировки в системе с компенсацией веса тела проводили так, как описано в разделе 2.1 по 15 мин в день, 5 раз в неделю, 6 недель.

Контроль восстановления двигательных функций проводили раз в две недели по BBB-шкале, по понедельникам, через два дня после последнего введения препарата и последней тренировки. В дни тестирования квипазин вводили после окончания тестирования, так как опубликованы данные о том, что квипазин, введенный непосредственно перед поведенческим локомоторным тестом, влияет на результат (Antri et al., 2005).

Морфологическое исследование проведено через 6 недель после операции. Спинной мозг фиксировали в этанол-формальдегиде. Часть препаратов исследовали после окраски тионином по Нисслю. В 5 случайно выбранных срезах спинного мозга (сегменты L2-L4) для каждой пластинки Рекседа подсчитывали количество морфологически неизмененных нейронов, нейронов с признаками хроматолиза и гиперхроматоза. Именно эти сегменты выбрали для анализа, так как многочисленные исследования показывают их особую роль в генерации локомоции у млекопитающих (например, обзор Kiehn, 2006). В другой части препаратов на парафиновых срезах иммуногистохимически выявляли синаптофизин (белок мембран синаптических пузырьков) с помощью поликлональных первичных антител (Dako, Дания) (Гилерович и др., 2007). По реакции нейронов при исследовании на синаптофизин клетки разделили на три группы: полностью окруженные иммунореактивной меткой, частично окруженные и нейроны, на которых метка отсутствовала.

3.2.2. Результаты и обсуждение

Результаты тестирования локомоторной активности животных по ВВВ шкале приведены на Рисунке 3.2. Введение квипазина значительно улучшает восстановление локомоции: стимуляция рецепторов серотонина оказывает такое же влияние, как и тренировки на тредбане (стимуляция афферентной системы), оценки локомоторной активности групп Сп-Квип и Сп-Тр достоверно не отличаются. Одновременная стимуляция афферентной и серотонинергической систем начиная со второй недели после операции приводит не только к возникновению шагоподобных движений задних конечностей, но и к восстановлению функции поддержки веса тела с постановкой лапы на опорную поверхность стопы (8 баллов по ВВВ-шкале, см. Приложение 1) и с восстановлением фазы опоры во время локомоции у отдельных животных (8 баллов по ВВВ-шкале). Оценки локомоторной активности в группе Сп-Тр-Квип достоверно больше, чем во всех других группах ($p<0.05$) начиная с 4-ой недели после операции.

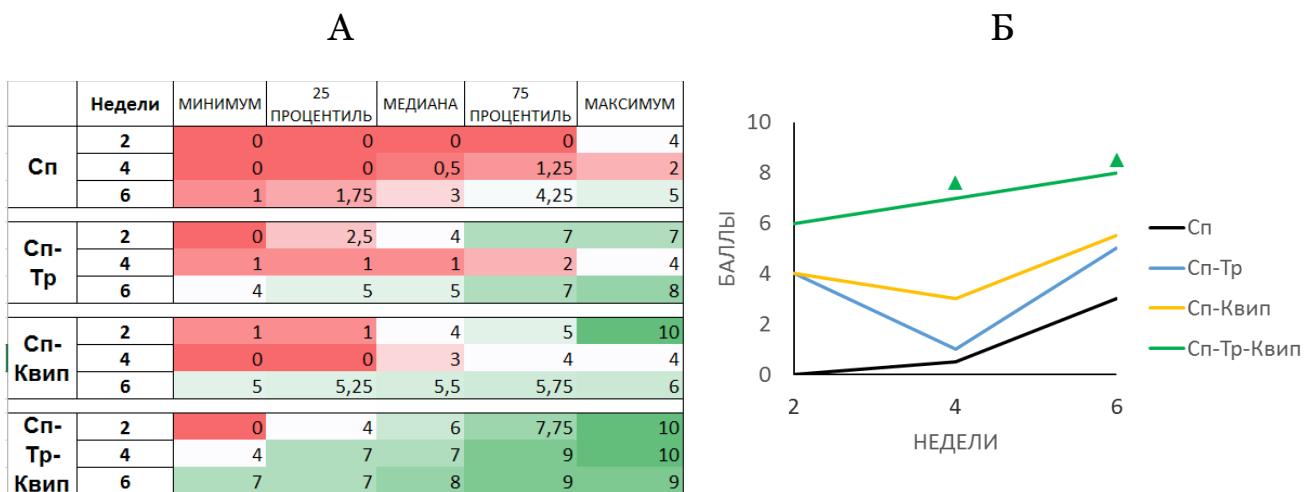


Рис. 3.2. Изменение локомоторной активности хронических спинализированных крыс через 2-6 недель после операции. А - цветовые диаграммы, представляющие результаты обследования двигательной активности в группах животных, в ячейках – баллы по ВВВ-шкале, см. Методы. Б – изменение медианы оценок локомоторной активности в группах; по вертикальной оси: баллы ВВВ-шкалы; ▲ – $p<0.05$ по сравнению со всеми другими группами.

Морфологическое исследование сегментов L2-L4 показало, что у крыс из группы Сп в сером веществе дистального отдела спинного мозга через

6 недель после операции наблюдаются клетки с признаками хроматолиза и гиперхроматоза, а также неизмененные нейроны (Рисунки 3.3, 3.4).

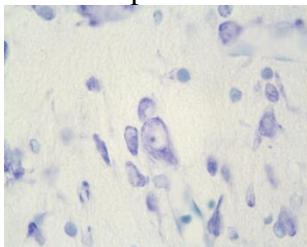
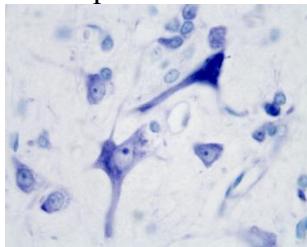
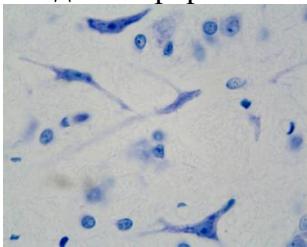
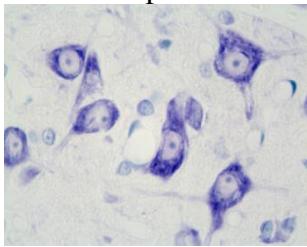
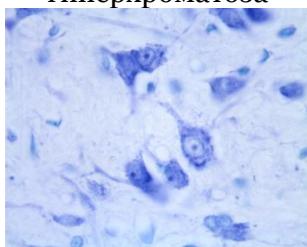
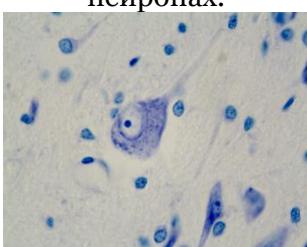
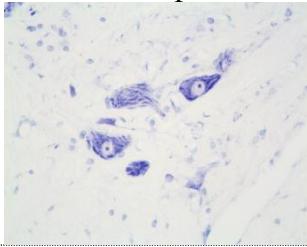
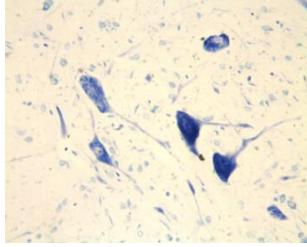
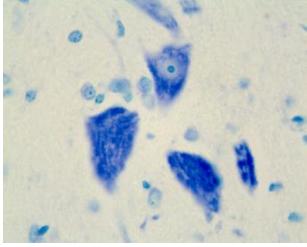
	Интактные	Сп	Сп-Квип
Пластиинки IV-V	Мелкие и средние нейроны. Все нервные клетки морфологически сохраны. 	>50% нейронов повреждены по типу гиперхроматоза и хроматолиза. 	50-60% нейронов имеют морфологические изменения, выраженные в виде гиперхроматоза 
Пластиинка VII	Мелкие и средние, крупные нейроны. Единичные гиперхромные нейроны 	Крупные нейроны с центральным хроматолизом, а нейроны среднего размера повреждены, в основном, по типу гиперхроматоза 	Крупные нейроны с центральным хроматолизом. Нейроны среднего размера повреждены, в основном, по типу гиперхроматоза. Эктопия ядра в крупных и средних нейронах. 
Пластиинка IX	Крупные клетки (мотонейроны). Единичные гиперхромные мотонейроны. 	Повреждаются >50% мотонейронов, в основном, по типу гиперхроматоза. 	Повреждаются >50% мотонейронов, в основном, по типу гиперхроматоза. 

Рис. 3.3. Микрофотографии срезов спинного мозга интактных и спинализированных крыс. Метод Ниссля. Ув. 100. Результаты одинаковые для сегментов L2-L4. Сп – спинализированные животные, Сп-Квип – спинализированные животные, которым вводили квипазин. Цит по (Герасименко и др., 2012).

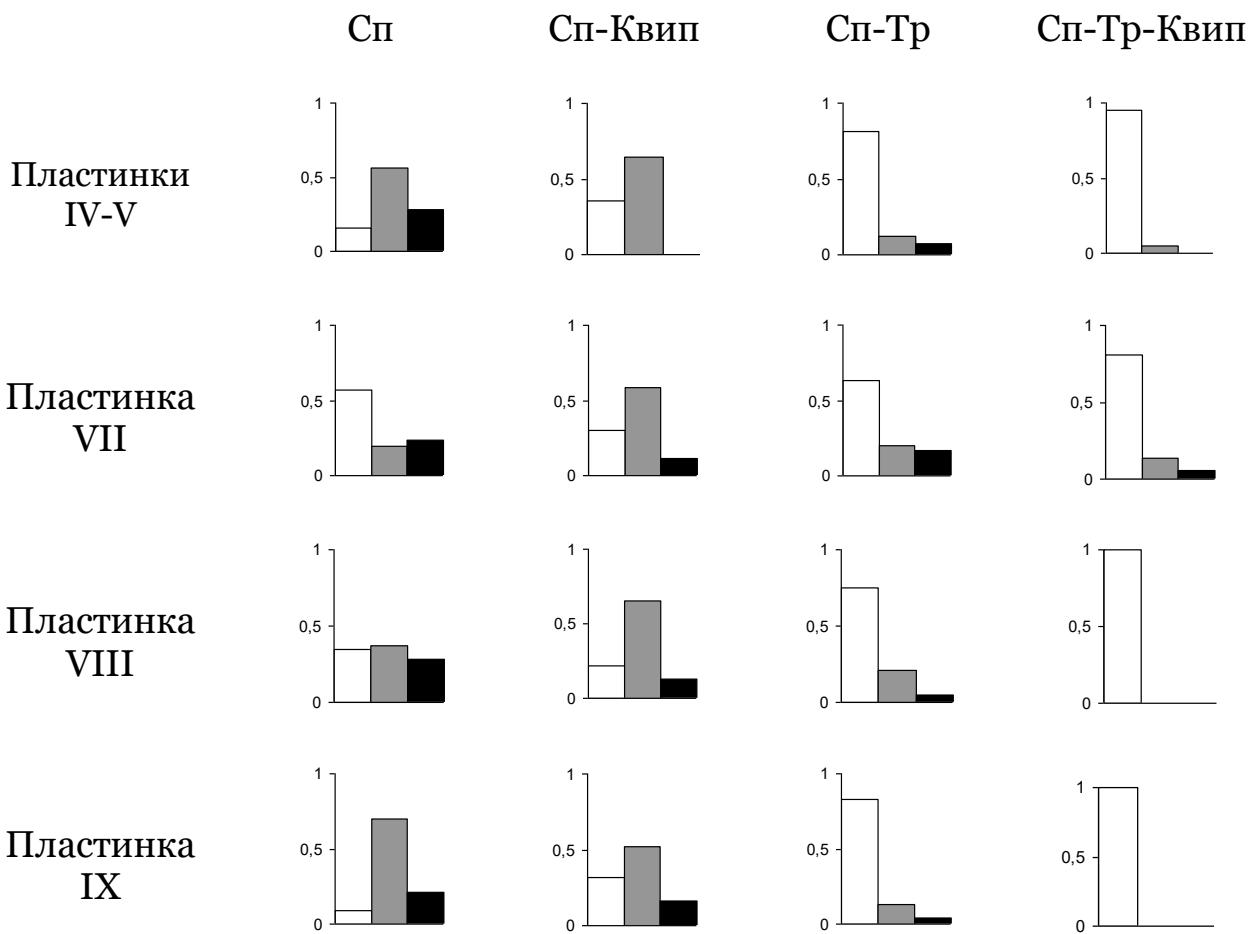


Рис. 3.4. Гистограммы распределения нейронов разной степени повреждения в IV-V и VII-IX пластинках Рекседа сегмента L2. Оценивалась доля измененных клеток в поперечных срезах спинного мозга от всего количества клеток пластинки. Черные столбики – хроматолиз нейронов, серые столбики – гиперхромные нейроны, белые столбики – морфологически сохранные нейроны. Сп – спинализированные животные, Сп-Квип – спинализированные животные, которым вводили квипазин, Сп-Тр – спинализированные тренированные животные, Сп-Тр-Квип – спинализированные тренированные животные, которым вводили квипазин.

У крыс группы Сп-Квип более чем в 3 раза увеличивается число морфологически неизмененных мотонейронов в IX пластинке Рекседа и в 2 раза – нейронов IV-V пластинок в сравнении с 1-ой группой животных. В промежуточной зоне серого вещества спинного мозга (пластинки VII и VIII) этой группы животных число морфологически неизмененных нервных клеток уменьшено вдвое по сравнению с группой животных Сп. В сравнении с крысами группы Сп-Тр, самые значительные изменения наблюдались в пластинке VII, где вдвое уменьшалось число клеток с явлениями хроматолиза и гиперхроматоза (Рисунок 3.4). Тренировка спинализированных крыс, получавших квипазин (группа Сп-Тр-Квип),

приводила к значительному улучшению морфологического состояния клеток: без признаков деструкции оставались почти все мотонейроны и клетки дорсальных рогов спинного мозга. В промежуточной зоне (пластинка VII) число нервных клеток без признаков деструкции достигало 75%.

Маркер синаптофизина дискретно окружает нейроны спинного мозга, выявляя аксосоматические синаптические контакты: предполагается, что он может служить маркером функциональной активности. Число нейронов, у которых иммунореактивная метка полностью окружает клетку, увеличивается во всех исследованных областях спинного мозга после тренировки на тредбане или тренировки, проводимой на фоне введения квипазина (Рисунки 3.5, 3.6). Несколько меньше их в промежуточной зоне (пластинка VII), которая демонстрирует 85-90% нейронов, полностью окруженных синаптофизин-иммунореактивными метками.

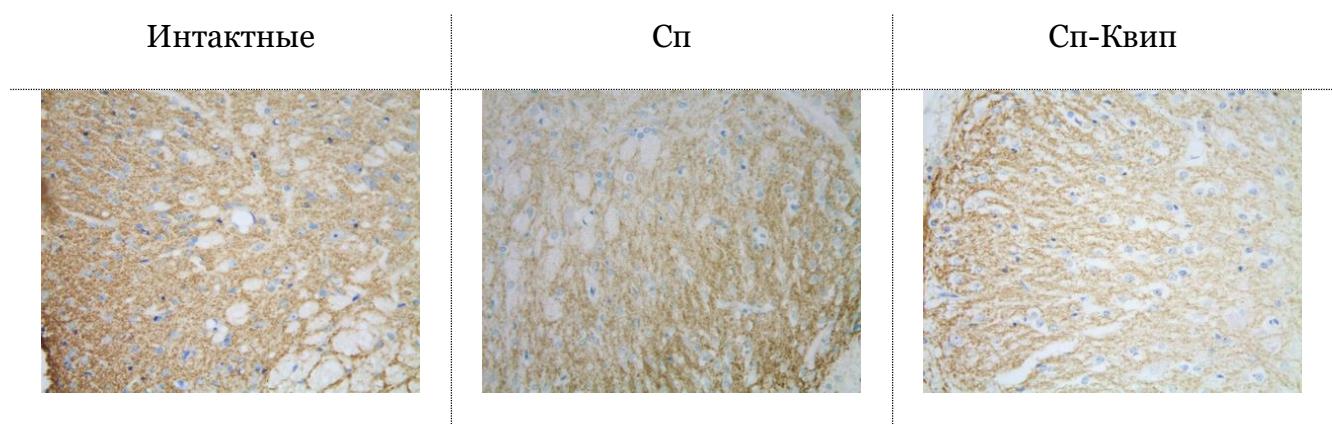


Рис. 3.5. Микрофотографии срезов спинного мозга интактных и спинализированных крыс. Иммуногистохимическая реакция на синаптофизин. Ув. 40. Результаты одинаковые для сегментов L2-L4. Сп – спинализированные животные, Сп-Квип – спинализированные животные, которым вводили квипазин. Цит по (Герасименко и др., 2012).

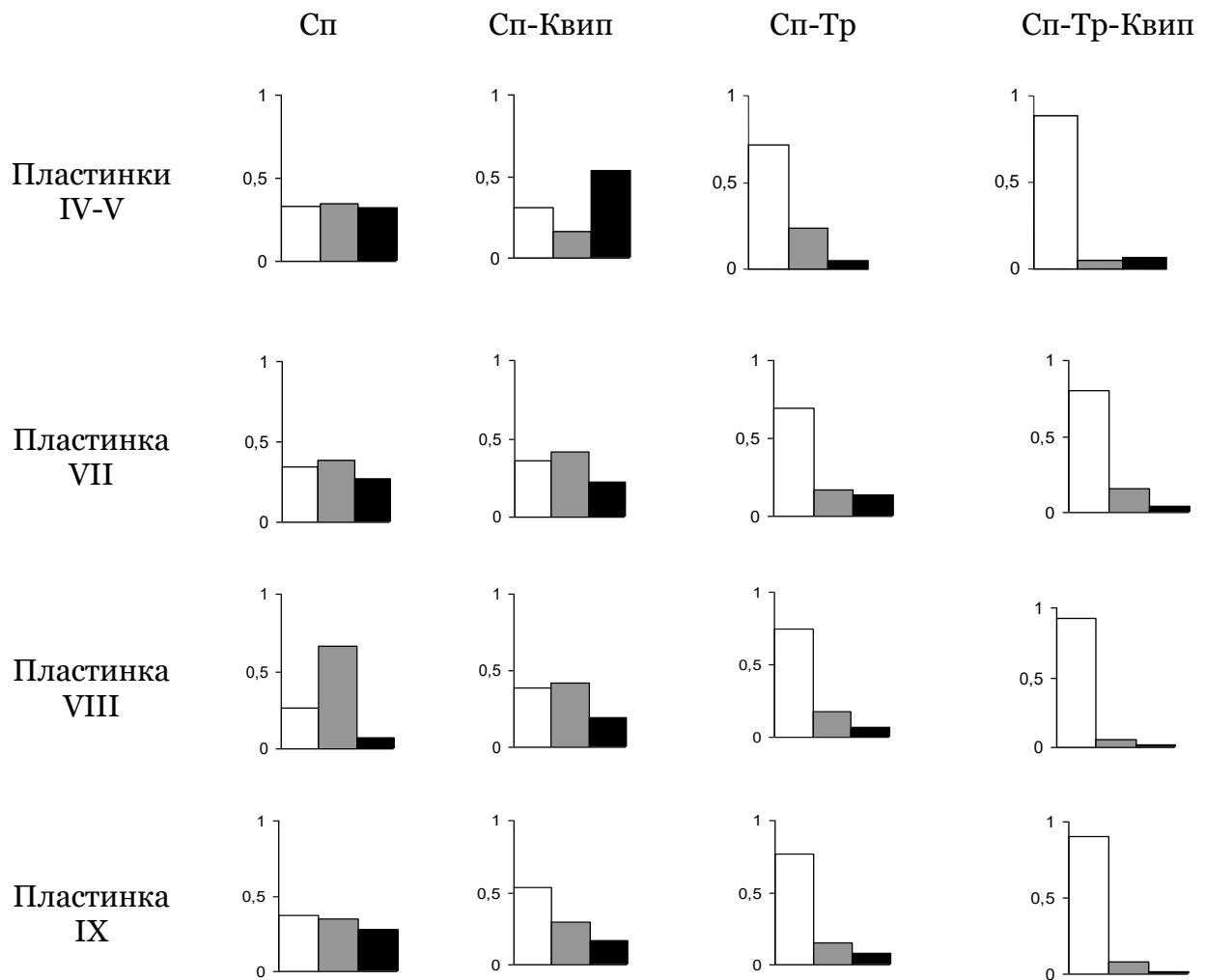


Рис. 3.6. Гистограммы распределения синаптофизин-иммунореактивной метки на цитолемме нейронов в пластинках Рекседа IV-V и VII-IX второго поясничного сегмента. Оценивалась доля каждой группы клеток (см. описание методов) в поперечных срезах спинного мозга от всего количества клеток пластинки. Черные столбики – отсутствие метки на цитолемме нейрона, серые столбики – частичное расположение метки на цитолемме, белые столбики – метка полностью окружает первые клетки. Остальные обозначения те же, что и на рис. 3.3.

Итак, в морфофункциональных исследованиях установлено, что серотонинергическая система играет значительную роль в организации локомоторных движений задних конечностей крыс после перерезки спинного мозга на нижнегрудном уровне. Действие неселективного агониста рецепторов серотонина (квипазина), приводит не только к улучшению локомоторной активности животных, но и способствует сохранению морфологических характеристик большинства нейронов спинного мозга, расположенных ниже места перерыва.

В обзоре литературы приведены данные о том, что серотонин регулирует активность как спинальных локомоторных сетей, так и афферентного звена в системе организации спинальной локомоции. Результаты наших экспериментальных исследований частично повторили то, что было получено ранее – введение квипазина хронически спинализированным крысам в аналогичном режиме восстанавливает двигательные функции и результаты тестирования количественно совпали с опубликованными (Antri et al., 2002; Antri et al., 2005). Однако мы впервые в одном эксперименте вводили квипазин спинализированным крысам, которых тренировали и которых не тренировали, и таким образом смогли выявить участие серотонинергической системы в сенсорно-моторной регуляции двигательной активности спинализированных животных. Наши данные, полученные с применением поведенческих методов, демонстрируют, что эндогенный серотонин (синтезируемый при транскраниальной электростимуляции) и экзогенный агонист серотонина (введенный системно) достоверно улучшают двигательную активность животных после полной перерезки спинного мозга примерно так же как тренировки – активация афферентов (Рисунок 3.2), то есть функционально квипазин имитировал афферентное воздействие. В тех случаях, когда агонист серотониновых рецепторов вводили на фоне тренировки, достоверное улучшение локомоции у крыс регистрировали раньше, чем в других случаях, и характеристики восстановленных движений были ближе к особенностям интактных движений (Рисунок 3.2). Вероятно, этот результат связан с тем, что квипазин, активируя серотониновые рецепторы, модулирует активность афферентов, участвующих в регуляции локомоции: оказывает тормозное влияние на нейроны афферентов группы II (Jankowska et al., 1997), тормозит передачу от афферентов флексорного рефлекса на мотонейроны (Anden et al., 1968), модулирует возбудимость первичных афферентов (Carstens et al., 1987; Hentall, Fields, 1983). Все это приводит к облегчению восстановления локомоторной активности на фоне

афферентной стимуляции на самых ранних сроках после операции. Вероятно, таким образом проявляется участие серотонинергической системы в регуляции афферентного звена в системе организации спинальной локомоции.

Результаты гистологического исследования свидетельствуют о том, что после перерезки нейроны дистального отдела спинного мозга находятся в сохранном состоянии в течение всего времени наблюдения, несмотря на полную изоляцию от центров головного мозга: введение агониста рецепторов серотонина активировало нейроны, тренировки усиливали эффект агониста. Результат может быть обусловлен тем, что серотонинергическая система спинного мозга имеет исключительно только супраспинальное происхождение.

Введение квипазина приводит к заметному увеличению количества активных мотонейронов (располагаются в слое IX по Рекседу) и к увеличению числа синаптических контактов на нейронах этого же слоя (Рисунки 3.3, 3.4). В электрофизиологическом исследовании недавно было показано, что квипазин одинаково активирует экстензорный (*n. tibialis ant.*) и флексорный (*n. peroneus*) нервы на интактном препарате спинного мозга крысы, в то время как на остром спинализированном препарате квипазин в большей степени активирует флексорный, чем экстензорный нерв (Chopek et al., 2013). Авторы работы связывают полученный результат с растормаживанием флексоров из-за отсутствия исходящего тонического торможения на 1а афференты флексоров. В своих исследованиях мы получили, что на хронических спинализированных животных квипазин скорее активирует экстензоры, чем флексоры, так как мы наблюдали восстановление опорных реакций в ответ на введение квипазина у этих животных. В исследованных нами сегментах L2-L4 расположены преимущественно ядра экстензорных мышц (Vejsada, Hnik, 1979; Janjua, Leong, 1984; Ноздрачев, Поляков, 2001). Таким образом, наблюданное нами в гистологическом исследовании увеличение активности мотонейронов

в сегментах L2-L4 в ответ на введение агониста серотониновых рецепторов с большой долей вероятности отражает активацию экстензоров. Поэтому эффект квипазина мы связываем с повышением возбудимости экстензорных пулов, обеспечивающих постуральный контроль.

Но активация флексоров при введении квипазина не объясняет тот факт, что при двойном воздействии (агонист и афферентная стимуляция) у крыс на самых ранних сроках после спинализации мы регистрировали отдельные эпизоды восстановления функции поддержки веса тела и появление фазы опоры в шагательном цикле, то есть очевидную активацию экстензоров. Это противоречие можно объяснить тем, что большая активация флексорных мотонейронов по сравнению с экстензорными была зарегистрирована на остром препарате спинализированных животных (Chopek et al., 2013). Мы наблюдали активацию экстензоров через две и более недель после перерезки спинного мозга. Вскоре после цитируемой работы появилась работа других авторов, которые показали, что у хронических спинализированных крыс введение квипазина напрямую активирует мотонейроны и приводит к появлению фазы опоры в локомоторном цикле, что проявлялось в характерной электрической активности *m. soleus* и *m. tibialis anterior* (Sławińska et al., 2014). Таким образом, в электрофизиологическом исследовании получены такие же результаты, как в нашей работе, где использованы морфофункциональные методы.

Известно, что непосредственно к спинальному генератору движений, структурам, которые индуцируют ритмическую активность, относятся нейроны, находящиеся в VI-VII и X слоях Рекседа (Grillner, 1975; Kjaerulff et al., 1994; Cina, Hochman, 2000; и др.). Мы не обнаружили в этих пластинках Рекседа различия в состоянии нейронов и синаптических контактов между группами Сп и Сп-Квип (Рисунки 3.3, 3.4), то есть по нашим данным квипазин, когда его введение не сопровождалось локомоторными тренировками, не оказывал влияния на состояние спинальной

локомоторной сети. Авторы цитированной выше работы (Sławińska et al., 2014) считают, что квипазин активирует как мотонейроны, так и спинальные локомоторные сети. Однако этот вывод они сделали на основании регистрации ЭМГ активности у крыс во время локомоции, гистологические исследования авторы не проводили. Кроме того, в этой работе крысам чередовали введение квипазина и введение 8-OHDPAT (8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)-tetralin), избирательного агониста рецепторов серотонина 1A/7-типа. Хотя исследователи постарались предотвратить сочетанное действие двух веществ, но полностью его исключить нельзя. И вот уже в этом году появилась публикация, в которой показано, что у взрослых крыс именно серотониновые рецепторы 7-типа участвуют в инициации локомоции (Cabaj et al., 2017).

Комиссуральные нейроны пластиночек VII-VIII демонстрируют активацию от введения квипазина на фоне локомоторных тренировок (Сп-Тр-Квип на Рисунках 3.3, 3.4), что является подтверждением участия рецепторов серотонина в активации и функционировании нейронов локомоторных сетей. После анализа результатов, полученных в группе Сп-Квип, становится очевидным, что квипазин оказывает действие на спинальные локомоторные сети только в сочетании с активацией афферентной системы. Вероятно, именно это обстоятельство является причиной того, что у спинальных животных агонисты серотониновой системы не инициируют, а модулируют локомоторную активность, вызванную иным способом (Barbeau, Rossignol, 1990; Chauet al., 1998; Feraboli-Lohnherr et al., 1998; Fong et al., 2005; Musienko et al., 2011). То же получили и мы: в тех случаях, когда введение агониста серотониновых рецепторов сочеталось с афферентным воздействием, движения восстанавливались в значительно большем объеме, чем при афферентном воздействии или при активации серотонинергической системы по отдельности (Рисунок 3.2Б).

Таким образом, сочетая поведенческие и имmunогистохимические методы в одном эксперименте, мы впервые однозначно показали, что серотонин регулирует активность спинальных локомоторных сетей на фоне афферентного воздействия. Ранее такой вывод делали на основании косвенных доказательств.

Глава 4. ИНИЦИАЦИЯ И РЕГУЛЯЦИЯ НЕПРОИЗВОЛЬНЫХ ЛОКОМОТОРНЫХ ДВИЖЕНИЙ У ЗДОРОВЫХ ИСПЫТУЕМЫХ

Наши знания о механизмах моторного контроля, локализованных на уровне спинного мозга, не могут исчерпываться результатами исследований на лабораторных животных. Для полноты картины необходимы данные, полученные в экспериментах на людях. В конце 90-х гг. в клинических исследованиях на пациентах с травмой спинного мозга были определены места в спинном мозге человека, электрическая стимуляция которых приводит к появлению локомоторных движений (Gerasimenko, Makarovsky, 1996; Dimitrijevic et al., 1998). Эти данные показали, что у человека, как и у животных, в спинном мозге могут находиться нейронные сети, способные в отсутствии супраспинального контроля генерировать шагательный паттерн. При интерпретации данных, полученных на пациентах с травмой спинного мозга, следует помнить о том, что это мозг человека после травмы, мозг, в котором произошли адаптивные перестройки, поэтому мы никогда не можем абсолютно полагаться на эти данные, делая выводы о механизмах функционирования двигательной системы у человека. Встала задача поиска неинвазивных способов стимуляции спинного мозга для исследования спинальных локомоторных сетей в экспериментах на здоровых испытуемых.

Известно, что транскраниальная электромагнитная стимуляция способна глубоко проникать и активировать нейроны в различных участках головного мозга (Hallett, 2000). Ю.П. Герасименко с коллегами (Городничев и др., 2010; Gerasimenko et al., 2010) провели исследование возможности вызова непроизвольных движений ног методом электромагнитной стимуляции спинного мозга. Испытуемых укладывали на кушетку, на левый бок, ноги размещали на отдельных досках, которые были закреплены веревками по типу качелей на высоте более 5 м (Рисунок 4.1А). При этом правая (верхняя) нога поддерживалась непосредственно в области голени, а левая (нижняя) – располагалась на

вращающейся шине, прикрепленной к горизонтально ориентированной доске. Такое положение испытуемых обеспечивало разгрузку ног, гарантировало независимое перемещение правой и левой ноги и практически не ограничивало амплитуду движений. Индуктор магнитного стимулятора размещали накожно, в области Т11-Т12 позвонков. Было получено, что электромагнитная стимулация спинного мозга вызывает непроизвольные движения нижних конечностей, характерные для ходьбы: ритмичное чередование сгибательных и разгибательных движений в суставах; движения в противофазе в тазобедренном и голеностопном суставах правой конечности; движения в противофазе в коленном суставе правой и левой ноги демонстрируют типичные естественные локомоторные движения (Рисунок 4.1. Б). При электромагнитной стимулации движения в тазобедренном суставе левой ноги не наблюдалось, т.к. испытуемый лежал на левом боку. Таким образом было показано, что переменная электромагнитная стимулация спинного мозга человека при облегченном положении самого испытуемого способна вызвать непроизвольные специфичные, типичные для ходьбы естественные локомоторные движения нижних конечностей. В этих экспериментах из 65 обследованных здоровых испытуемых только у 7 человек можно было вызвать непроизвольные движения. При ложном тестировании (испытуемые слышали звуковые щелчки, сопровождающие магнитную стимулацию, но электромагнитное воздействие отсутствовало) шагательные движения отсутствовали у всех испытуемых; это доказывает, что движения, вызванные электромагнитной стимулацией у здоровых испытуемых, были непроизвольными.

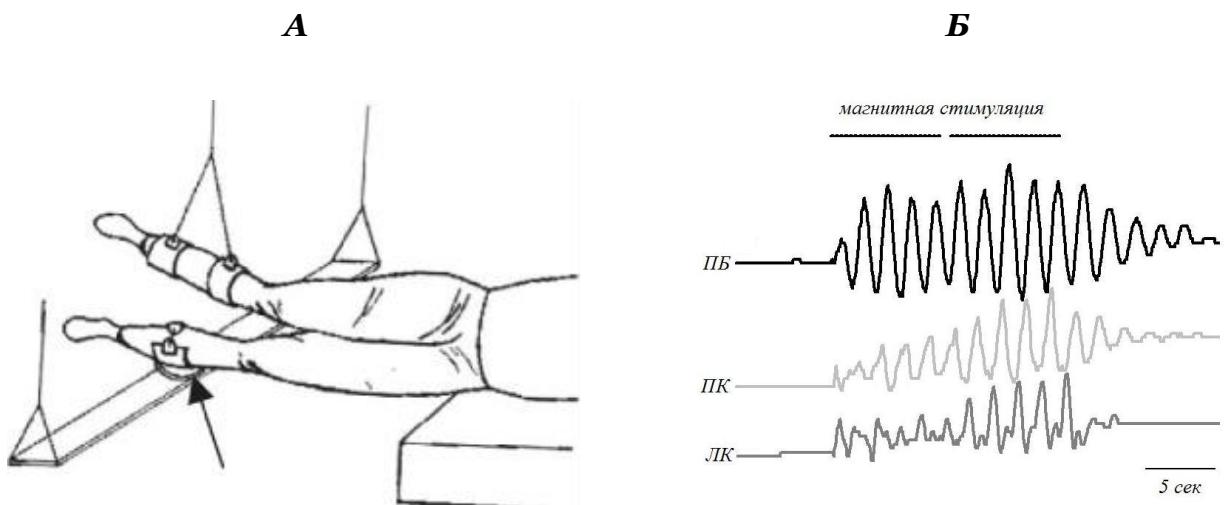


Рис. 4.1. А. Положение ног испытуемого во время эксперимента (цит. по Гурфинкель и др., 1998). Б. Результат воздействия переменной электромагнитной стимуляции с частотой 3 Гц в области позвонков Т11-Т12 на движения нижних конечностей. Кривые – гониограммы, показывают изменение угла в суставе. Направление гониограммы вверх – сгибание сустава, вниз – разгибание сустава. ПБ – правое бедро. ПК – правое колено. ЛК – левое колено. По (Герасименко и др., 2008).

Еще одним доказательством возможности активации спинальных генераторов с помощью электромагнитного воздействия являются результаты исследований на экспериментальной модели децеребрированной кошки (Богачева и др., 2012). Было показано, что магнитная стимуляция с частотой 3-5 Гц вызывала шагательные движения у 100% животных при стимуляции шейного утолщения спинного мозга и у 30% животных – при стимуляции поясничного утолщения. Движения задних конечностей при магнитной стимуляции были идентичны движениям, вызываемым эпидуральной электрической стимуляцией поясничного утолщения: наблюдали хорошую ходьбу, перемещения суставов были координированы, а полученные записи электрической активности мышц доказывают, что вызванные движения были шагательными.

Таким образом, было показано, что электромагнитная стимуляция может быть использована для неинвазивного доступа к локомоторным спинальным нейронным сетям у человека и животных; электромагнитная стимуляция способна инициировать непроизвольные, автоматические по

своей природе шагательные движения у человека (Gerasimenko et al., 2010). Однако эффективность этого способа стимуляции не велика: 10% успешных случаев в исследованиях на здоровых испытуемых, 30% - на лабораторных животных.

Еще одно ограничение электромагнитной стимуляции спинного мозга связано с экспериментальной техникой. Один из самых мощных современных магнитных стимуляторов, используемых в клинике (Magstim Rapid, UK), позволяет задать только краткосрочное ритмическое воздействие. При параметрах магнитной стимуляции, необходимых для запуска шагания (частота 5 Гц, интенсивность 1.5 Тл), электромагнитный индуктор позволяет осуществлять воздействия не дольше 15 с.

Кроме того, при электромагнитной стимуляции сложно определить локальность воздействия на спинной мозг и это обстоятельство также затрудняет использование данного метода для изучения спинальных локомоторных сетей у человека.

Таким образом, электромагнитная стимуляция спинного мозга – возможный способ неинвазивной стимуляции спинного мозга, однако, имеющий ряд ограничений: при электромагнитной стимуляции поясничного утолщения движения могли быть вызваны только у одного испытуемого из десяти, невозможно обеспечить локальную стимуляцию единственного сегмента спинного мозга и, кроме того, современная техника может обеспечить воздействие не дольше 15 с, в то время как для достижения эффекта необходимы сеансы длительностью не менее 2 мин.

Недавно был продемонстрирован другой неинвазивный способ стимуляции спинного мозга человека (Courtine et al., 2007; Dy et al., 2010). Дай с соавт. (Dy et al., 2010) опубликовали результаты исследования рефлексов спинного мозга, вызванных электрической чрескожной стимуляцией спинного мозга (ЧССМ) здоровых испытуемых (9 мужчин и женщин) и пациентов с травмой спинного мозга (9 мужчин). Накожно, между остистыми отростками Th11 и Th12 размещали активный электрод,

пассивные электроды располагали на гребнях подвздошных костей. Стимулы представляли собой одиночные монофазные прямоугольные импульсы длительностью 1 мс, интенсивность стимула была такая, которая вызывала рефлекторные ответы во всех регистрируемых мышцах ног в положении стоя (пациентам обеспечивали поддержку веса тела). В группе здоровых добровольцев эта величина составила 9.5-66 мА, в группе пациентов – 26.8-83 мА. В статье показаны результаты исследования рефлексов спинного мозга, вызванных ЧССМ, полученные на 18 испытуемых, рефлексы с применением ЧССМ вызывались в 100% случаях.

Наши собственные предварительные исследования на здоровых добровольцах показали, что ЧССМ в области Th11-Th12 позвонков с частотой 5-40 Гц вызывает ритмические движения ног. Однако такая стимуляция малоэффективна и плохо воспроизводима из-за болезненности непрерывных импульсов: пороговые значения интенсивности, необходимой для вызова движений, больше или совпадают с порогами болевой чувствительности. В той предварительной серии экспериментов были использованы импульсы, такой же формы, как применяются при электрической эпидуральной стимуляции спинного мозга, такие же, как были использованы для регистрации рефлексов в цитированной выше публикации (Dy et al., 2010) – монополярные прямоугольные.

Несколько десятилетий назад стала популярной электрическая стимуляция скелетных мышц с применением переменного тока в килогерцовом диапазоне (Ward, Shkuratova, 2002; Ward, 2009). Коц с коллегами подобрали режим стимуляции, приводящий к увеличению мышечной силы до 40% без увеличения мышечной массы, и использовали его в подготовке элитных спортсменов. Было показано, что оптимальным является режим 10/50/10 (10 с стимуляции потом 50 с перерыв, повторы на протяжении 10 мин) при частоте 2.5 кГц (Коц, Хвилон, 1971; Андрианова и др., 1971). Чрескожная стимуляция нервов токами высокой частоты

обеспечивает хороший результат в случае острой и хронической боли разного происхождения. Метод клинически доказан, используется в повседневной практике физиотерапевтами, другими специалистами и известными атлетами по всему миру (Long-Sun, 2005; Mello et al., 2011).

Стимуляция спинного мозга прямоугольными биполярными стимулами в виде меандров с несущей частотой 10 кГц была нами апробирована на здоровых испытуемых-добровольцах, оказалось, что такие стимулы безболезненны в исследованном диапазоне и вызывают непроизвольные шагательные движения.

4.1. Чрескожная электрическая стимуляция спинного мозга человека

4.1.1. Материалы и методы

В исследованиях принимали участие взрослые здоровые добровольцы мужского пола (студенты и сотрудники Великолукской государственной академии физической культуры и спорта). В соответствии с принципами Хельсинкской декларации было получено информированное письменное согласие испытуемых на участие в экспериментах и разрешение комитета по этике названного вуза на проведение исследований.

Испытуемые располагались на кушетке в положении лежа на левом боку, с ногами, размещенными на отдельных досках, которые были закреплены веревками по типу качелей к крюку в потолке экспериментальной комнаты (Рисунок 4.1А). Согласно инструкции, испытуемые должны были лежать спокойно и не препятствовать (не способствовать) выполнению движений, вызываемых электрической стимуляцией спинного мозга.

Для ЧССМ использовали стимулятор Кулон (ГУАП, СПб). Движения ног вызывали прямоугольными биполярными импульсами длительностью 0.5 мс, заполненными несущей частотой 10 кГц; интенсивность стимуляции

лежала в диапазоне от 20 до 120 мА. Частота стимуляции составляла 1-40 Гц, длительность воздействия 10-60 с. При модулировании прямоугольных стимулирующих импульсов высокочастотной составляющей ЧССМ не вызывала болевых ощущений при увеличении амплитуды до 100 мА и более, поэтому можно было детально исследовать зависимость вызываемых движений от амплитуды и частоты стимуляции.

Стимулирующий электрод (катод) в виде диска диаметром 2.5 см, изготовленный из токопроводящего пластика с адгезивной поверхностью (например, Lead-Lok, Sand point, США), располагали по средней линии позвоночника между остистыми отростками грудных позвонков Т11/Т12. Индифферентные электроды (анод) – пластины прямоугольной или овальной формы 5*10.2 см² (той же фирмы, что и активные электроды) располагали симметрично на коже над гребнями подвздошных костей.

Электромиограммы mm. *rectus femoris*, *biceps femoris*, *tibialis anterior* и *gastrocnemius* справа и слева регистрировали с помощью биполярных поверхностных электродов (например, ARBO, H124SG). ЭМГ сигналы регистрировали с помощью телеметрического 16-тиканального электронейромиографа (ME 6000 MegaWin, Финляндия). Движения сгибания-разгибания в коленных суставах регистрировали с помощью гoniометров, входящих в комплект электронейромиографа.

Для регистрации кинематических характеристик движений ног использовали видеосистему (Qualisys, Швеция). Светоотражающие маркеры прикрепляли на правую ногу, к точкам тела, совпадающим с осями движения в плечевом, тазобедренном, коленном и голеностопном суставах. Угловые перемещения в тазобедренном суставе вычисляли по положению маркеров, расположенных на латеральном мышелке плеча, большом вертеле и латеральном мышелке бедра. Маркеры, прикрепленные к большому вертелу, латеральному мышелку бедра и лодыжке, использовали для оценки движений в коленном суставе. Перемещения в голеностопном суставе измеряли по маркерам, локализованным на

латеральном мышцелке бедра, лодыжке и большом пальце ноги. Реконструкцию движений одного шагательного цикла производили с помощью оригинальной программы. Для регистрации движений конечной точки ноги маркер крепили на большой палец правой ноги.

Электронейромиограф (ЭМГ и гониограммы) и видеосистема (кинематические параметры движений) были синхронизированы. Среднюю величину периода шагательного цикла и амплитуду угловых перемещений суставов ног определяли за 10–12 циклов. Период цикла шагания вычисляли по длительности интервала между двумя максимальными значениями угловых перемещений в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах. Сдвиг фаз между перемещениями в коленном и тазобедренном суставах определяли по интервалу между максимальными значениями углов (угловых перемещений в этих суставах).

Статистическую обработку данных производили с применением пакета стандартных компьютерных программ.

4.1.2. Результаты и обсуждение

При ЧССМ с частотой 1 Гц регистрировали рефлекторные ответы в мышцах ног, порог вызова которых составлял 70–80 мА (Рисунок 4.2). Увеличение интенсивности стимула приводило к увеличению амплитуды ответов. Первыми в двигательный ответ вовлекались мышцы бедра (*m. rectus femoris* и *m. biceps femoris*), а затем – мышцы голени (*m. tibialis anterior* и *m. gastrocnemius*). Ответ на каждый стимул состоит из ранних моносинаптических ответов, с латентным периодом около 12–15 мс – это соответствовало ранее опубликованным данным (Courtine et al., 2007). При увеличении интенсивности стимула в двуглавой мышце бедра (мышца-сгибатель) появлялись также ответы с латентным периодом в несколько десятков миллисекунд, которые являются, по-видимому, полисинаптическими. Таким образом, при низкочастотной (1 Гц) ЧССМ

были зарегистрированы рефлекторные ответы в мышцах ног с моно- и полисинаптическими компонентами.

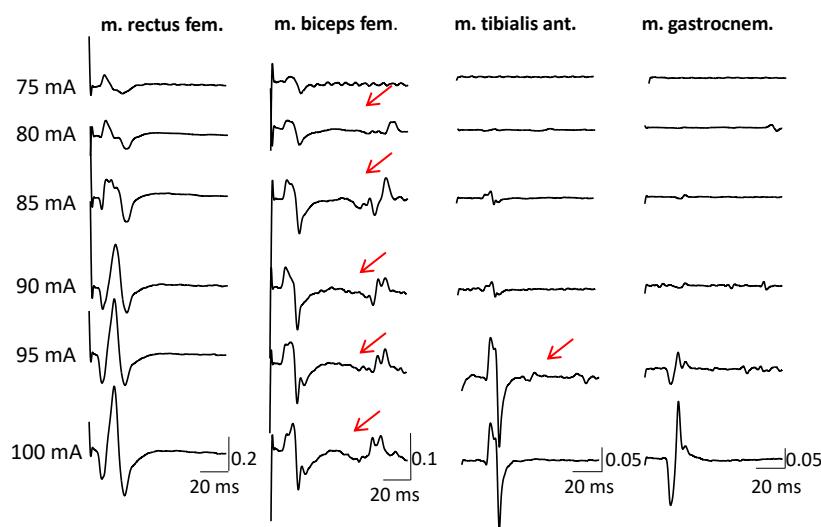


Рис. 4.2. Двигательные ответы мышц правой ноги на ЧССМ с частотой 1 Гц и амплитудой 75-100 мА (указаны слева от записей). Показаны ответы мышц бедра (*m. rectus fem.*, *m. biceps fem.*), и голени (*m. tibialis ant.*, *m. gastrocnemius*). Стрелки указывают на поздние полисинаптические ответы. Внизу справа от нижних записей – отметки амплитуды в мВ и одинаковые для всех мышц отметки времени в мс. Цит по (Мошонкина и др., 2012).

Ранее было показано, что ЧССМ одиночными импульсами в области Т11-Т12 позвонков вызывает ответы в мышцах ног с латентным периодом, соответствующим моносинаптическому рефлексу (Courtine et al., 2007). Предполагается, что такие ответы появляются вследствие возбуждения афферентов дорсальных корешков большого диаметра (de Noordhout et al., 1988; Troni et al., 1994; Dyhre-Poulsen et al., 2005; Minassian et al., 2007; и т.д.). Моносинаптический характер рефлексов подтверждается парной стимуляцией и тем, что эти ответы подавляют при вибрации сухожилий мышц. Ранее было продемонстрировано, что у животных при эпидуральной стимуляции (Gerasimenko et al., 2006), а также у здоровых добровольцев (Courtine et al., 2007; Dy et al., 2010) при парной ЧССМ с межстимульной задержкой 50 мс ответы на второй стимул подавляются; при прямой активации мотонейронов вентральном роге или при активации

вентральных корешков рефрактерный период был бы меньше 50 мс (Struijk et al., 1993). Известно, что вибрация подавляет моносинаптические рефлекторные пути гомологичных мышц по механизму пресинаптического торможения (Mao et al., 1984). Поэтому подавление вызванного ЧССМ ответа в мышцах голени при вибрации Ахиллова сухожилия прямо указывает на его моносинаптическое происхождение. Еще одним аргументом, доказывающим моносинаптическую природу ответов при накожной стимуляции, является схожесть модуляции классического моносинаптического Н-рефлекса и рефлекторных ответов при ЧССМ во время ходьбы у нормальных испытуемых (Courtine et al., 2007) и пациентов с поражением спинного мозга (Dy et al., 2010): в обоих случаях амплитуда модуляции рефлексов была пропорциональной и фазово-зависимой от уровня активации каждой мышцы. Во флексорных мышцах, кроме моносинаптических ответов, мы регистрировали иногда поздние полисинаптические ответы на ЧССМ (Рисунок 4.2). Полисинаптические рефлексы были ранее зарегистрированы во флексорных мышцах интактных и спинальных животных при одиночной эпидуральной стимуляции (Gerasimenko et al., 2006; Lavrov et al., 2006) и являлись предвестниками возникновения шагательных движений в ответ на ритмическую стимуляцию спинного мозга. Таким образом, выше перечисленные факты позволяют утверждать, что ЧССМ способна активировать моно- и полисинаптические нейронные сети.

При ЧССМ с частотами 5, 10, 20, 30 и 40 Гц у пяти испытуемых из шести были зарегистрированы непроизвольные движения ног (Рисунок 4.3). Пороговая интенсивность стимуляции, вызывающей движения, составляла 50-60 мА и зависела от частоты стимуляции. При этом была обнаружена индивидуальная зависимость возможности вызова шагательных движений от частоты стимуляции. У одних испытуемых (Р., С.) шагательные движения вызывались при всех исследованных частотах, у других испытуемых (К. и Г.) они были зарегистрированы при

частотах 5-30 Гц и не вызывались при 40 Гц, у испытуемого Б. вызывались при частотах 5 и 30 Гц. Латентный период начала движений не зависел от частоты стимуляции и составлял 0.2-2.5 с.

Непроизвольные движения ног, вызываемые ЧССМ, полностью соответствовали характеристикам шагательных движений (Рисунок 4.4). Как и при произвольных шагательных движениях, в вызванных непроизвольных движениях хорошо заметны чередование сокращений одноименных мышц правой и левой ног, а также чередование активности мышц-антагонистов бедра и голени. Это хорошо видно на кривых, демонстрирующих перемещения тазобедренного и коленного суставов, движения в этих суставах, как при произвольных движениях, так и при ЧССМ, происходили со сдвигом фаз (движения в коленном опережали движения в тазобедренном суставе).

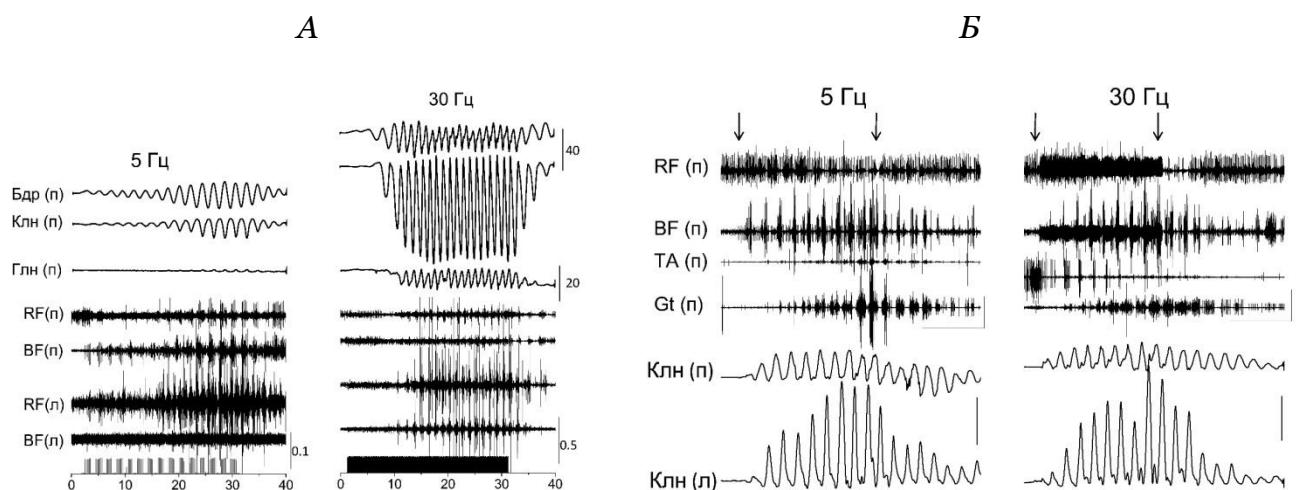


Рис. 4.3. Электрическая активность мышц ног и движения в суставах ног при ЧССМ с частотами 5 и 30 Гц. А: испытуемый Р.; кинематограммы движений в суставах правой ноги и ЭМГ записи мышц бедра правой и левой ног; под ЭМГ – отметка стимула; вертикальные метки справа – амплитуды в угл. град. и мВ, соответственно; длительность записей 40 с. Б: испытуемый С.; ЭМГ записи мышц бедра и голени правой ноги и гониограммы коленных суставов правой и левой ног; стрелки вверху – начало и конец стимуляции; горизонтальная и вертикальная метки рядом с ЭМГ – 10 с и 0.5 мВ, соответственно; вертикальная метка справа от гониограмм – 200 мВ. Бдр: бедро; Клин: колено; Глин: голеностоп; RF: m. rectus femoris; BF: m. biceps femoris; TA: m. tibialis anterior; Gt: m. gastrocnemius; (п): справа; (л): слева. Цит. по (Городничев и др., 2012).

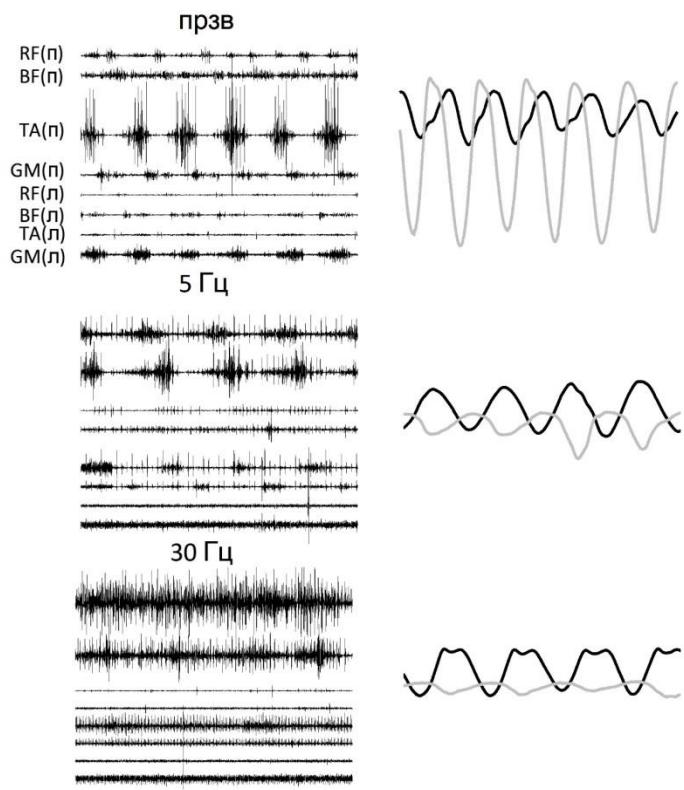


Рис. 4.4. Электромиографические записи (слева) и траектории движений светоотражающих маркеров, установленных на правой ноге, кинематограммы (справа), зарегистрированные во время произвольных шагательных движений (прзв) и движений, вызванных ЧССМ с частотами 5 и 30 Гц. Длительность записей 10 с. RF: m. rectus femoris; BF: m. biceps femoris; TA: m. tibialis anterior; GM: m. gastrocnemius; (п): справа; (л): слева; черная и серая линии – движения в тазобедренном и коленном суставах, соответственно. Цит. по (Городничев и др., 2012).

На Рисунке 4.5 показаны результаты реконструкции шагательного цикла в трех суставах правой ноги во время произвольных шагательных движений, и движений, вызванных ЧССМ, а также траектории движений большого пальца ноги (конечной точки). В движениях ног, вызванных ЧССМ, как и в произвольных шагательных движениях, хорошо выражены «фазы переноса» ноги вперед и «фаза опоры» при движении ноги назад (Рисунок 4.5А, Б). Перемещения всех суставов при выполнении произвольных движений сложнее, чем при вызванных движениях (Рисунок 4.5В, Г). То же справедливо и для траектории движений конечной точки, являющейся результатом суммы движений во всех трех суставах, зарегистрировавшейся с помощью маркера, закрепленного на большом пальце ноги (Рисунок 4.5Д). Как видно на Рисунке 4.5Д, при произвольных движениях большой палец описывает эллипс. При вызванных движениях траектория перемещений большого пальца похожа на «слипшийся» эллипс, нога совершает колебательные движения вперед-назад без

значительных перемещений по вертикали. У других испытуемых наблюдали аналогичные отличия межсуставной координации при произвольных и вызванных шагательных движениях и выраженность фаз опоры и переноса во время движений при ЧССМ.

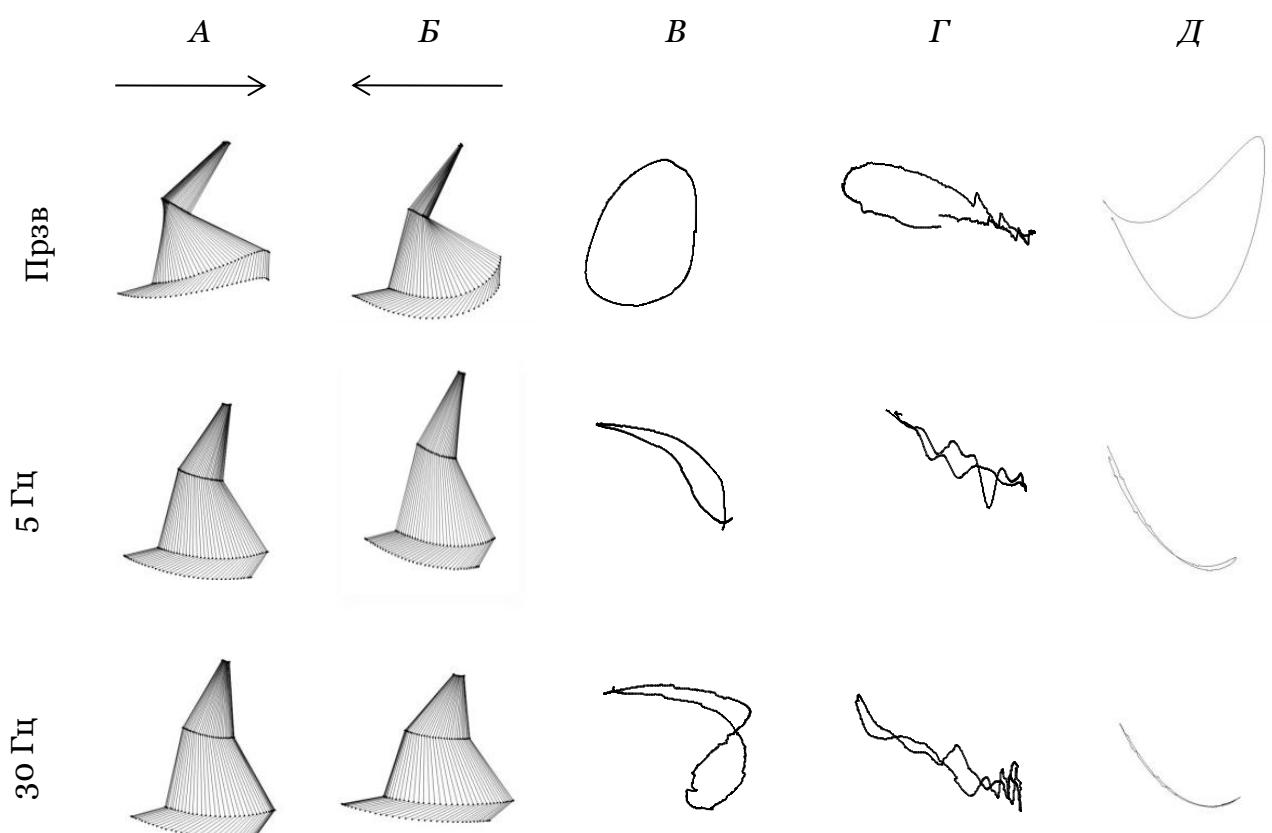


Рис. 4.5. Межсуставная координация произвольных шагательных движений (Прзв) и движений, вызванных ЧССМ с частотами 5 и 30 Гц. Реконструкции движений правой ноги в течение одного шагательного цикла, полученные при обработке кинематограмм, при движении ноги вперед (A) и назад (B), координация движений в тазобедренном и коленном (C), коленном и голеностопном суставах (D) и траектории движения большого пальца ноги (E). Испытуемый Р. Цит. по (Городничев и др., 2012).

Период, а, следовательно, и частота, шагательных движений не зависели от частоты стимуляции. Средний период шагательных движений составил у испытуемых Р., С., К., Б. и Г. 2.7 ± 0.14 с, 2.4 ± 0.55 с, 2.4 ± 0.15 с, 3.2 ± 0.85 с и 1.9 ± 0.09 с, соответственно.

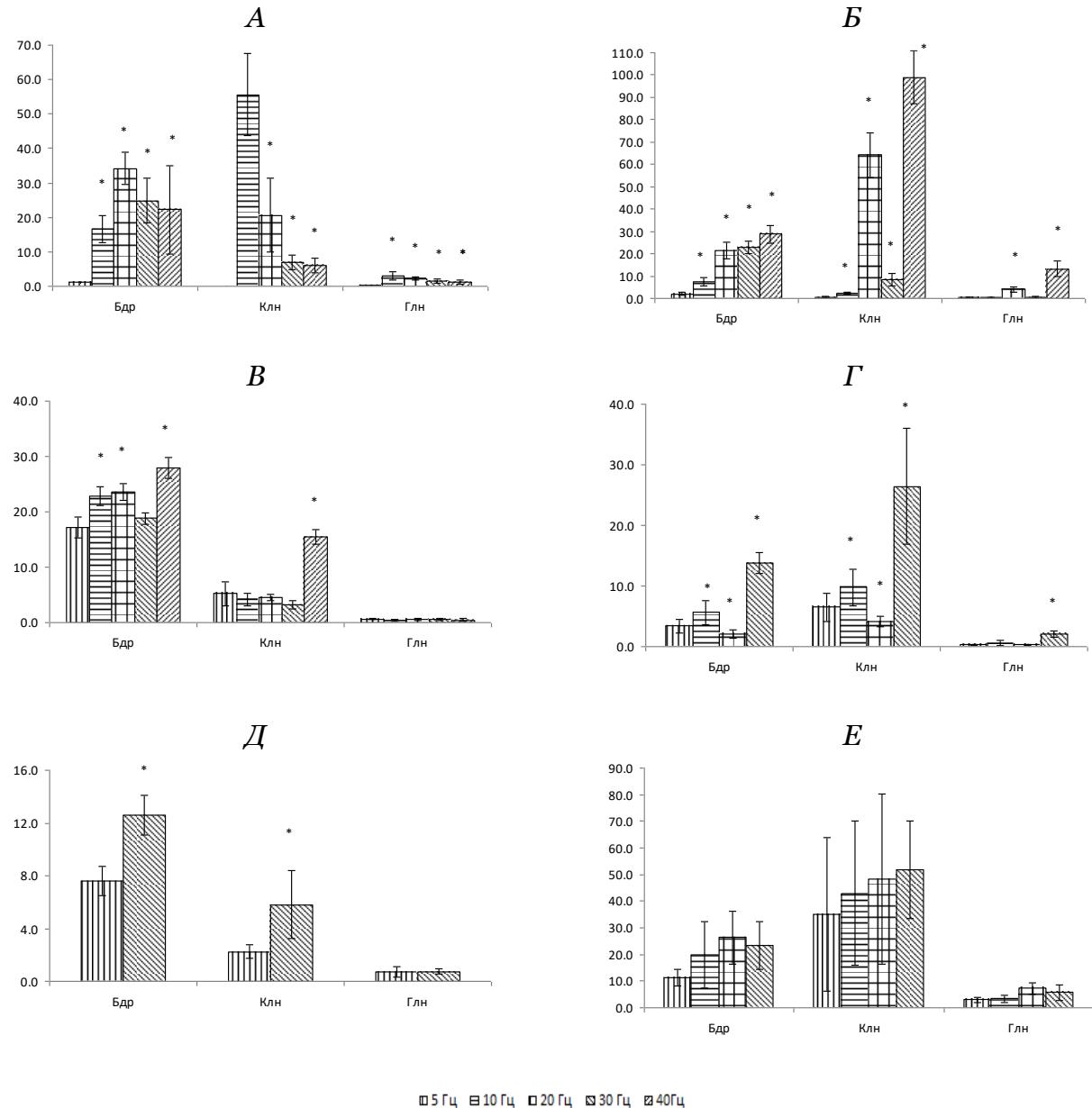


Рис. 4.6. Средняя амплитуда движений в тазобедренном (Бдр), коленном (Клн) и голеностопном (Глн) суставах, вызванных ЧССМ с частотой 5-40 Гц, зарегистрированных в первые 15 с после начала стимуляции. По вертикали – угл. град. А и Б: испытуемый С., разные стратегии. В: испытуемый Р. Г: испытуемый Б. Д: испытуемый К. Е: испытуемый Г. Полосы погрешности: стандартное отклонение. Звездочки: достоверные отличия от амплитуды, зарегистрированной при ЧССМ с частотой 5 Гц, $p \leq 0.05$. Цит. по (Городничев и др., 2012).

У троих из пяти испытуемых (С., Г. И Р.) амплитуда движений в начале стимуляции плавно увеличивалась до максимальной, а после ее прекращения в течение 2-4 с уменьшалась. У двух других испытуемых (К. и В.) движения длились не дольше 20 с и затухали на фоне продолжающейся ЧССМ. Были проанализированы средние амплитуды

движений за первые 15 с от начала стимуляции (Рисунок 4.6). Обнаружена зависимость амплитуды движений от частоты стимуляции. Во всех суставах, как правило, минимальные движения вызывались при меньшей частоте стимуляции 5 Гц (Рисунок 4.6Б, Г). Исключение составил лишь один из случаев стимуляции у испытуемого С., у этого испытуемого амплитуда движений в тазобедренном суставе при увеличении частоты увеличилась, а амплитуда движений в коленном и голеностопном суставах с увеличением частоты уменьшалась (Рисунок 4.6А). При анализе траектории движений большого пальца ноги у этого испытуемого, отражающей амплитуду движений ноги в целом, в случае, показанном на Рисунке 4.6А, амплитуда движения в конечной точке ноги при 10, 20, 30 и 40 Гц была больше, чем при 5 Гц, в 15.0, 19.9, 15.3 и 16.4 раз, соответственно, а в случае, представленном на Рисунке 4.6Б, - в 3.5, 9.4, 11.3 и 80.7 раз, соответственно. Таким образом, увеличение частоты стимуляции спинного мозга приводило к увеличению амплитуды движений ног.

Следует обратить внимание на случаи, показанные на Рисунках 4.6.Б и Г, в которых увеличение частоты обусловливало достоверное увеличение амплитуды движений в голеностопном суставе. Возможность управления движениями в голеностопном суставе с помощью изменения частоты стимуляции является положительным результатом действия ЧССМ, так как при электромагнитной стимуляции спинного мозга движения в голеностопном суставе отсутствовали (Городничев и др., 2010).

Результаты предыдущих исследований показали, что ростральные сегменты поясничного отдела спинного мозга являются триггерной областью для инициации локомоторных движений (Deliagina et al., 1983). У спинальных пациентов (Dimitrijevic et al., 1998) и у спинальных крыс (Ichiyama et al., 2005) шагательный паттерн ЭМГ активности вызывался при эпидуральной стимуляции L2 сегмента. В настоящих экспериментах для вызова шагательной ритмики мы использовали ЧССМ в области 11-12 грудных позвонков, что соответствует проекции L2-L3 сегментов спинного

мозга. Как было выше показано, у здоровых добровольцев в условиях внешней вывески ног электромагнитная стимуляция этой области способна инициировать шагательные движения. Эти данные согласуются с современными представлениями о структурно-функциональной организации генераторов шагания с распределенными ритм-задающими и паттерн-формирующими системами (McCrea, Rybak, 2008), в которых ростральным сегментам поясничного отдела спинного мозга отводится роль триггера локомоторной функции.

При эпидуральной стимуляции спинного мозга у спинальных пациентов частота, эффективная для вызова шагательных движений, находится в диапазоне 30-40 Гц (Dimitrijevic et al., 1998), а у децеребрированной кошки наиболее эффективна для вызова локомоции частота 5 Гц (Gerasimenko et al., 2008). Проведенные исследования показали, что шагательные движения у здоровых испытуемых вызываются при ЧССМ частотами в диапазоне от 5 до 40 Гц. При высокой частоте стимуляции (30-40 Гц) амплитуда вызванных шагательных движений, как правило, была больше, хотя длительность шагательного цикла, по сравнению с низкочастотной стимуляцией (5 Гц) изменялась незначительно. Такой широкий диапазон частот, эффективных для вызова движений, вероятно может обуславливаться большими адаптивными возможностями интактного спинного мозга и его проводящих путей.

Интенсивность накожной электрической стимуляции (50-80 мА) для вызова шагания приблизительно в 10 раз превышала интенсивность токов, которые при эпидуральной стимуляции эффективны для вызова шагательных движений у спинальных пациентов (Dimitrijevic et al., 1998). Очевидно, что такая разница связана с большим сопротивлением тканей, находящихся между стимулирующими накожными электродами и корешками спинного мозга.

При ЧССМ у большинства испытуемых непроизвольные шагательные движения инициировались в тазобедренном и коленном суставах с задержкой 2-3 с после начала стимуляции. Типичным при этом было плавное, постепенное увеличение амплитуды движений в тазобедренном и коленном суставах с последующим вовлечением в движение голеностопного сустава (Рисунок 4.3). Аналогичный характер инициации непроизвольных шагательных движений с постепенным вовлечением в активность разных моторных пулов мышц ног отмечен при эпидуральной стимуляции спинного мозга (Dimitrijevic et al., 1998; Minassian et al., 2007; Angeli et al., 2014), а также при вибрации мышц (Гурфинкель и др., 1998; Selionov et al., 2009). На основании этого можно предположить, что ЧССМ, так же, как и эпидуральная стимуляция, воздействует на спинальные локомоторные сети, активируя входящие в спинной мозг афференты дорсальных корешков. Прямая стимуляция спинного мозга помимо дорсальных корешков и дорсальных столбов, может активировать также пирамидный и ретикулоспинальный тракты, вентральные корешки, мотонейроны, нейроны дорсального рога и симпатические тракты (Barolat, 1995, 1998). Ранее было показано, что при ЧССМ одиночными прямоугольными импульсами ток распространяется перпендикулярно позвоночнику с высокой плотностью под паравертебральным электродом (Troni et al., 1996). Вероятно, такая стимуляция в первую очередь активирует дорсальные корешки, погруженные в цереброспинальную жидкость, а не нейроны спинного мозга, проводимость которых значительно ниже (Holsheimer, 1998). Можно предположить также, что при ЧССМ в активность последовательно вовлекаются афференты Ia и Ib групп, имеющие наибольший диаметр и, соответственно, наибольшую проводимость, затем афференты группы II и спинальные интернейроны, опосредующие полисинаптические рефлексы. Наличие полисинаптических компонентов в вызванных потенциалах флексорных мышц (Рисунок 4.2) подтверждает их участие в шагательном ритмогенезе.

Таким образом, можно считать, что ЧССМ активирует разные спинальные нейронные системы, однако, основными среди них являются дорсальные корешки с их моно- и полисинаптическими проекциями к моторным ядрам. Каков вклад моно- и полисинаптических компонентов в формировании шагательной ритмики при ЧССМ пока остается неизвестным. ЧССМ одиночными стимулами сопровождалась возникновением моносинаптических рефлексов в большинстве исследуемых мышц ног. Однако, при непрерывной ритмической стимуляции, инициирующей непроизвольные шагательные движения, электромиографические пачки формировались не за счет амплитудной модуляции моносинаптических рефлексов, как это имело место у спинальных крыс и у спинальных пациентов при эпидуральной стимуляции (Gerasimenko et al., 2008). Активность внутри электромиографической пачки при движениях, вызванных ЧССМ, не является стимул-зависимой, т.е. пачка ЭМГ не состоит из отдельных рефлекторных ответов. Аналогичная стимул-независимая пачечная ЭМГ активность наблюдалась и при непроизвольных движениях, вызванных электромагнитной стимуляцией спинного мозга (Городничев и др., 2010; Gerasimenko et al., 2010).

Таким образом, был разработан новый неинвазивный способ вызова шагательных движений у здоровых испытуемых посредством чрескожной электрической стимуляции спинного мозга. Конструктивная особенность стимулятора, генерирующего биполярные импульсы, заполненные несущей высокой частотой, позволила безболезненно стимулировать спинной мозг, и вызывать непроизвольные шагательные движения. Фундаментальное значение результатов связано с получением новых данных в пользу существования у человека спинальных локомоторных сетей. Эти доказательства впервые были получены в исследованиях на здоровых добровольцах, а не на пациентах с травмой спинного мозга, то есть в случае, когда в спинном мозге человека произошли адаптивные

перестройки. Кроме того, доказана возможность управления этими сетями с помощью неинвазивных воздействий на спинной мозг. ЧССМ стала удобным инструментом для исследования механизмов регуляции локомоторного поведения у здоровых испытуемых, а также может быть использована в реабилитационном лечении двигательных функций как альтернатива инвазивной эпидуральной стимуляции спинного мозга, а в иных случаях – когда хирургическое вмешательство для установки электродов невозможно, - единственный возможный способ эффективного реабилитационного лечения.

4.2. Эффекты многоканальной чрескожной стимуляции спинного мозга

4.2.1. Материалы и методы

Характеристики испытуемых, положение испытуемых во время исследования, инструкции испытуемым, устройства для стимуляции и регистрации движений, частоты стимуляции, метод анализа движений, т.е. вся методология была аналогичной той, которая описана в разделе 4.1.

Исследовали эффекты стимуляции на 3 уровнях спинного мозга. Стимулирующие электроды (катоды) в виде дисков диаметром 2.5 см (например, Lead-Lok, Sand point, США), располагали по средней линии позвоночника между остистыми отростками грудных позвонков T11/T12, шейных позвонков C5/C6 и на границе грудного и поясничного отделов, между позвонками T12/L1. Частота стимуляции составляет 5 Гц, длительность воздействия варьирует от 10 с до 1.5 мин.

Использовали также специально разработанную матрицу электродов (Рисунок 4.7А). Матрица изготовлена из электронейтрального материала. На подложке размером 15x15 см² размещены электроды в виде мягких чашечек диаметром 2 см, расстояние между чашечками по горизонтали – 1 см, по вертикали – около 2 см. Расстояние между чашечками по вертикали

можно менять, обеспечивая точное позиционирование электродов. Чашечки прикреплены к подложке пружинящим основанием, сквозь это основание, по его оси, перпендикулярной к подложке, пропущен электрический проводник, выходящий на дно чашечки, выстланной токопроводящим материалом, служащим электродом. Проводники всех чашечек соединены с электростимулятором через коммутатор (Рисунок 4.7Б).

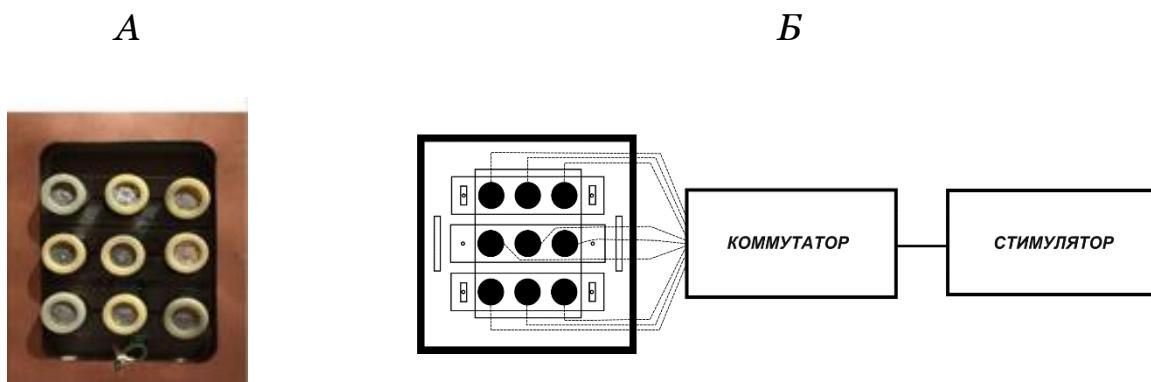


Рис. 4.7. А. Матрица электродов 3х3, использованная для стимуляции спинного мозга на уровне поясничного утолщения спинного мозга. Б. Блок-схема коммутации матрицы с электрическим стимулятором. Цит. по (Герасименко и др., 2015).

4.2.2. Результаты и обсуждение

При ЧССМ трёх уровней спинного мозга были использованы токи до 180 мА (Таблица 4.1), эти токи не вызывали у испытуемых боли или неприятных ощущений, что объясняется применением биполярных импульсов, модулированных частотой 10 кГц.

Таблица 4.1. Максимальная интенсивность тока, использованного при ЧССМ разных уровней спинного мозга с частотой 5 Гц (мА)

Испытуемый/ Положение электрода	C5	T11	L2
Р.Г.	160	160	160
В.С.	80	100	100
К.К.	80	80	80
А.Б.	100	180	180
С.И.	70	130	70

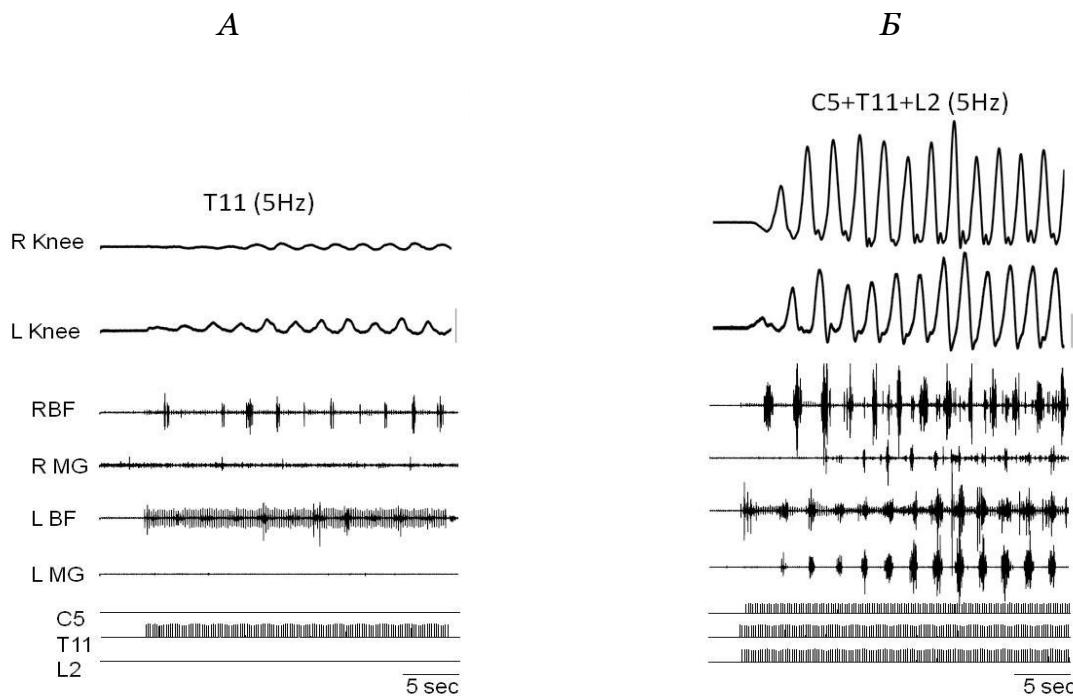


Рис. 4.8. Изменение угла в коленных суставах правой (R) и левой (L) ноги и электрическая активность mm. biceps femori (BF), medial gastrocnemius (MG) при стимуляции на одном уровне (A) и на трех уровнях спинного мозга (Б). Внизу показана отметка стимуляции, C5, T11 и L2 – положение активных электродов. Исп. А.Б. Цит. по (Герасименко и др., 2014).

Как было сказано выше, ЧССМ с частотой 5 Гц на уровне Т11 позвонка вызывает непроизвольные движения ног (Рисунок 4.8А). Движения являются шагоподобными, так как характеризуются периодической (в виде пачек) активностью в мышцах ног, активность в гомологичных мышцах правой и левой ноги реципрокна, реципрокность также наблюдается и в движениях в коленных суставах. При трехуровневой стимуляции наблюдается увеличение амплитуды движений на протяжении первых 2-3 циклов, это видно, как по амплитуде движений в коленном суставе, так и по ЭМГ активности (Рисунок 4.8Б). Амплитуда движений при мультисегментарной стимуляции значительно больше, чем при стимуляции на одном уровне. На Рисунке 4.9 показаны индивидуальные амплитудно-временные характеристики инициации движений при ЧССМ на одном и трёх уровнях. Как правило, амплитуда движений и скорость нарастания амплитуды больше при мультисегментарной, чем при

одиночной стимуляции, а период движений мало зависит от уровня стимуляции.

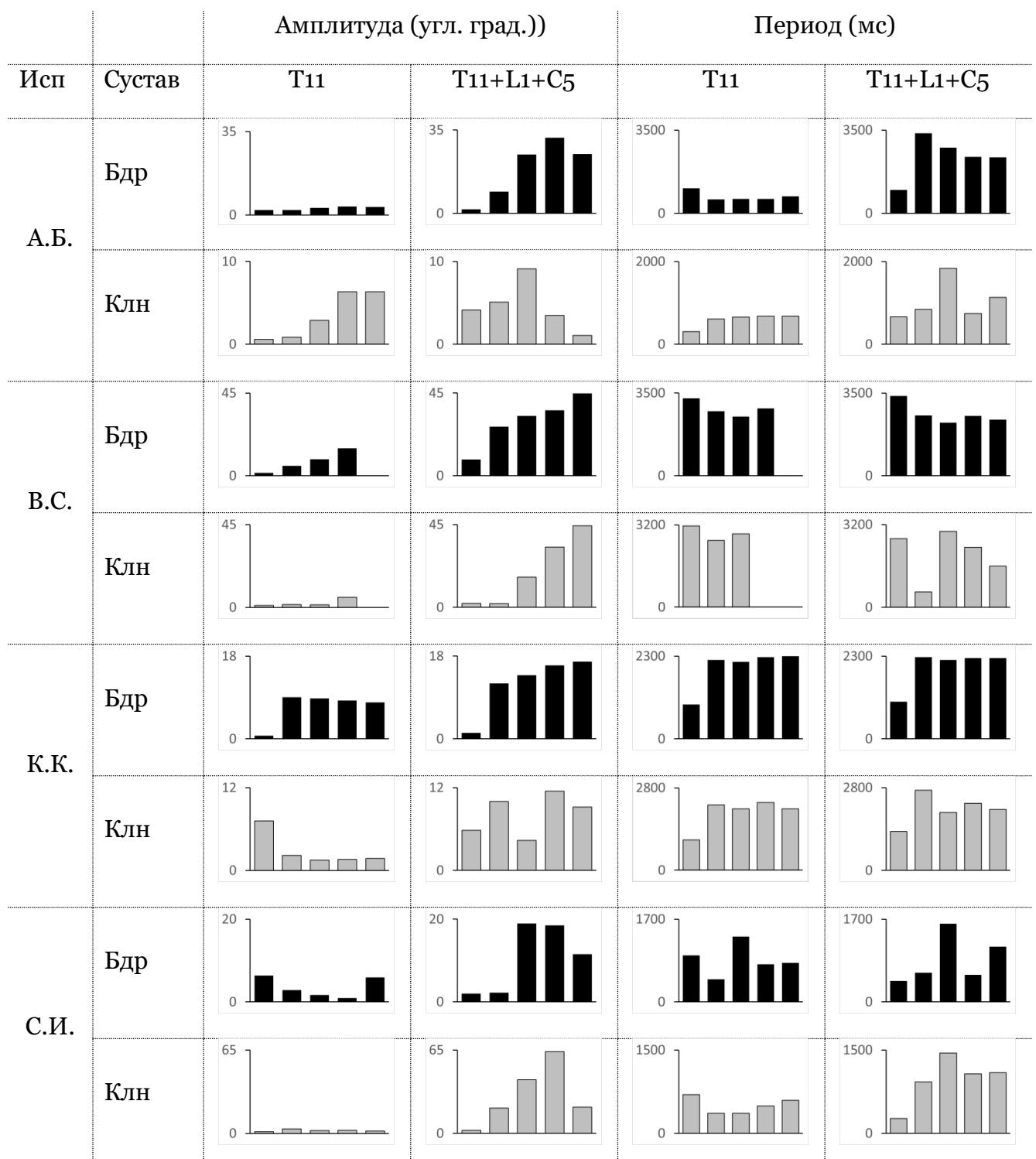


Рис. 4.9. Инициация движений при мультисегментарной ЧССМ и ЧССМ на одном уровне. Показаны изменения амплитуды движений в тазобедренном и коленном суставах и длительность этих движений для первых пяти движений после начала стимуляции. Приведены данные четырех испытуемых. Цит по (Gerasimenko et al., 2015).

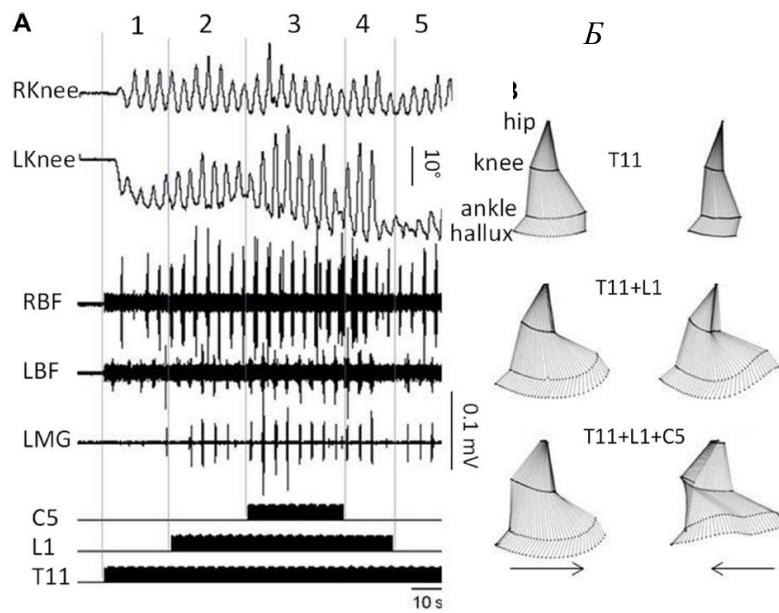


Рис. 4.10. А: Движения в коленном суставе и электрическая активность мышц ног при одном, двух и трёх уровнях стимуляции спинного мозга. Обозначения те же, что на рис. 4.8. Б: стик-диаграммы соответствующих движений, данные для правой ноги; стрелки под диаграммами показывают направление движения. Цит по (Gerasimenko et al., 2015).

Амплитуда вызванных движений увеличивается при добавлении к стимуляции на одном уровне, на уровне Т11, стимуляции на других уровнях, L1 и C5 (фазы 2 и 3 на Рисунках 4.10А, 4.11). Прибавление каждого нового уровня стимуляции ведет к немедленному увеличению амплитуды движений, появлению активности в мышцах голени (*m. gastrocnemius* на Рисунке 4.10А, фазы 2 и 3), вовлечение в движение голеностопного сустава (Рисунки 4.10Б, 4.11). При прекращении стимуляции на уровне С5 уменьшается амплитуда движений (фаза 4 на Рисунке 4.10А), при прекращении стимуляции на уровне L5 амплитуда движений не уменьшается (фаза 5 на Рисунке 4.10А).

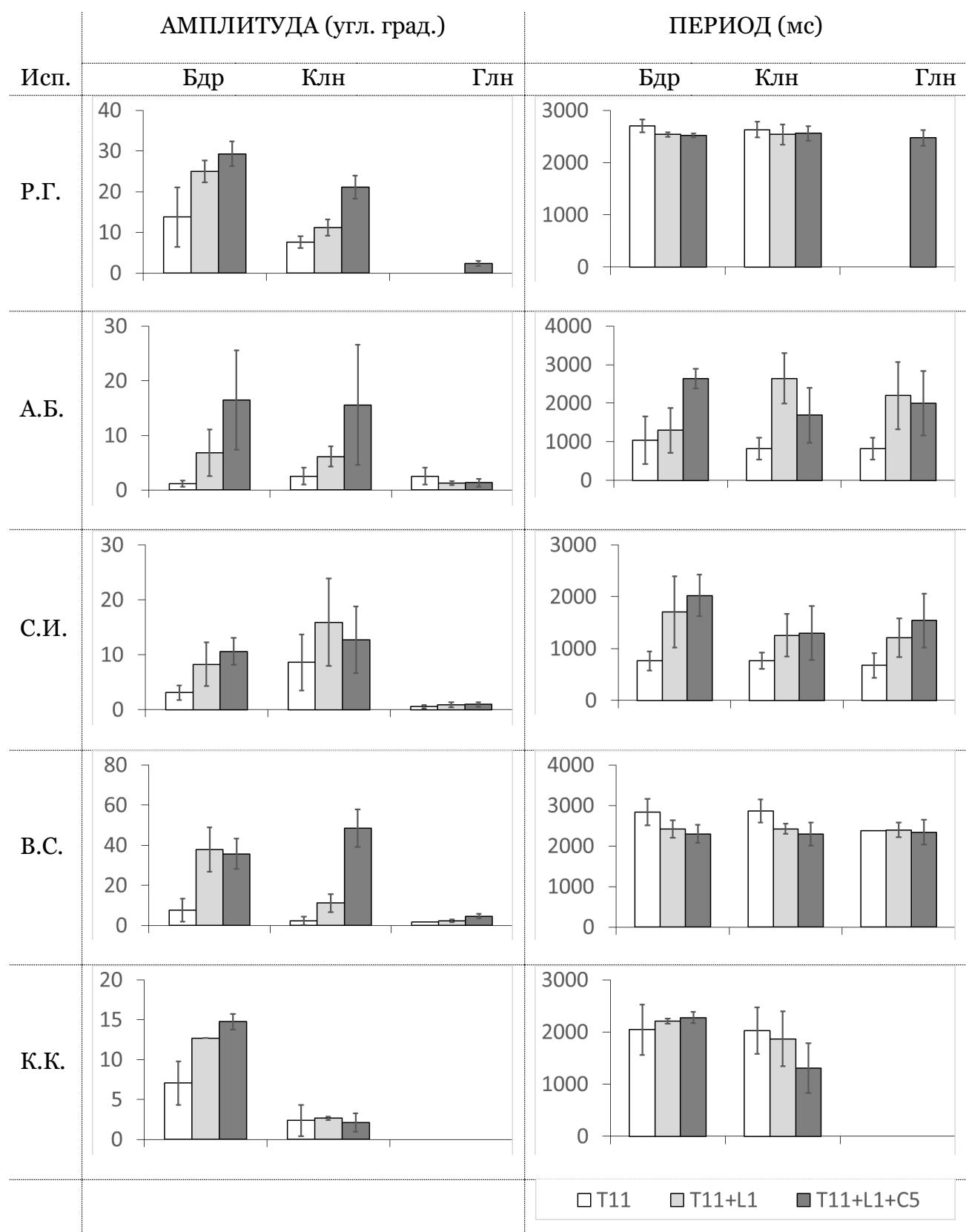


Рис. 4.11. Усредненные амплитуды и длительности движений ног в суставах у каждого из испытуемых при ЧССМ на одном, двух и трёх уровнях с частотой 5 Гц. Данные усреднены по 10 шагам. Бдр, Клин, Глн – бедренный, коленный, голеностопный сустав, соответственно. Исп. – испытуемые. Цит по (Gerasimenko et al., 2015).

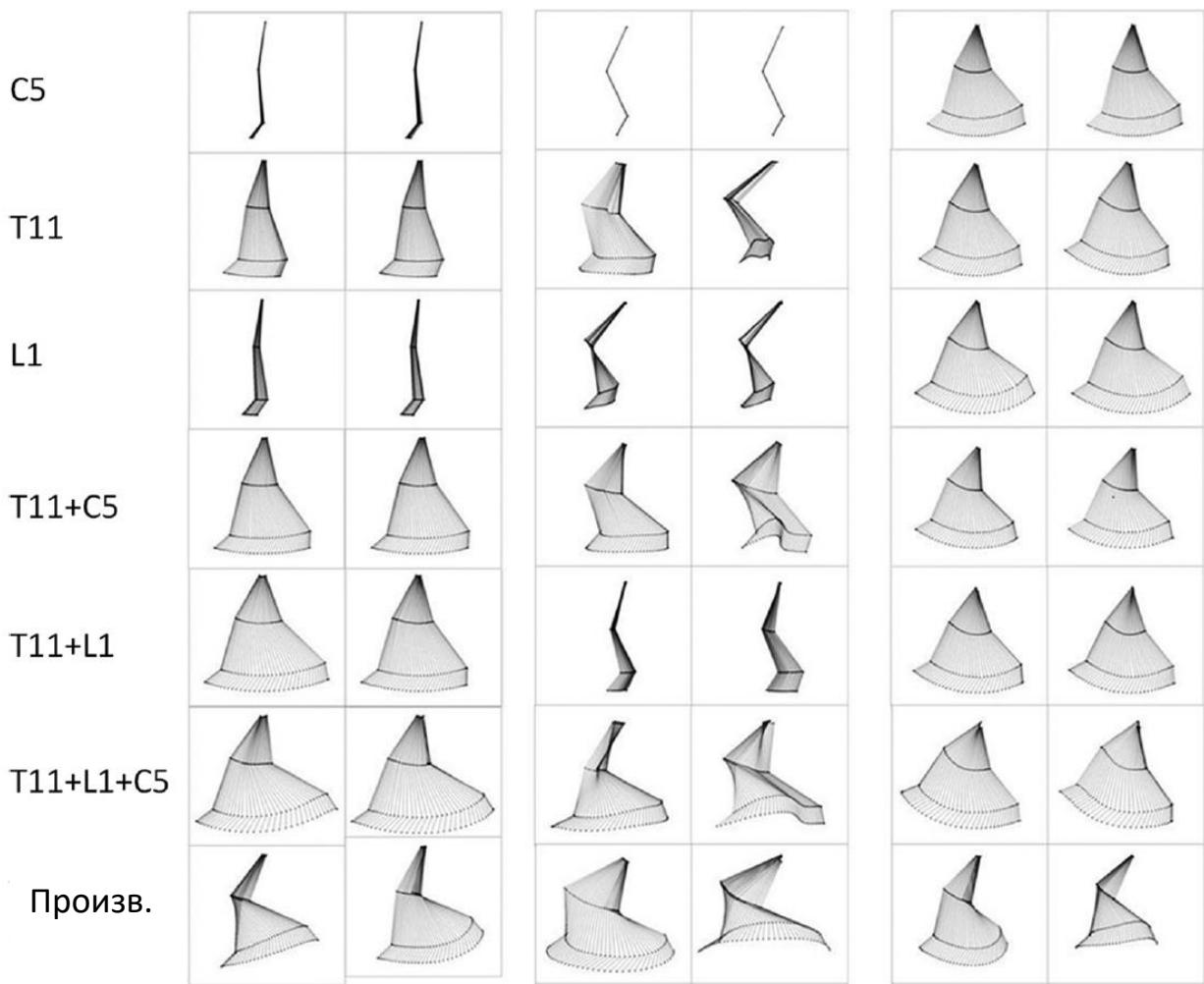


Рис. 4.12. Стик-диаграммы, показывающие один шаг правой и левой ноги при разных уровнях ЧССМ и при произвольных движениях в условиях внешней вывески ног, для трёх испытуемых. Отметки положения (стики) через 40 мс. Произв. – произвольные движения. Цит по (Gerasimenko et al., 2015).

Амплитуды вызванных движений в трех основных суставах ног у всех испытуемых показаны на Рисунке 4.11. В основном, амплитуда движений в тазобедренном и коленном суставах увеличивается при последовательном увеличении количества уровней стимуляции. При всех вариантах стимуляции амплитуда движений в голеностопном суставе была минимальной. Длительности движений в суставах (период) при дополнении уровней стимуляции изменялись разнонаправленно у разных испытуемых. Если при нормальной ходьбе по опоре периодичность движений в трех основных суставах ног примерно одинакова, то при «ходьбе» в условиях гравитационной разгрузки, вызванной ЧССМ,

движения в суставах не так согласованы. У испытуемого А.Б. периоды движений в бедре и колене не согласованы при стимуляции T11+L1 и T11+L1+C5, у испытуемых С.И. и К.К. – при стимуляции T11+L1+C5. Индивидуальные особенности координации движений в суставах при разных уровнях стимуляции показаны на стик-диаграммах (Рисунок 4.12). На этом рисунке видно, что у испытуемого В.С. координация движений не зависит от уровня стимуляции, у двух других – зависит значительно. Так, при стимуляции на одном уровне (C5 или L1) у испытуемых С.И., Р.Г. вызывались движения с минимальной амплитудой, при стимуляции на двух уровнях (T11+L1) движения также были небольшой амплитуды. У всех испытуемых стимуляция на трех уровнях вызывали движения, с амплитудой не меньше, чем амплитуда произвольных движений.

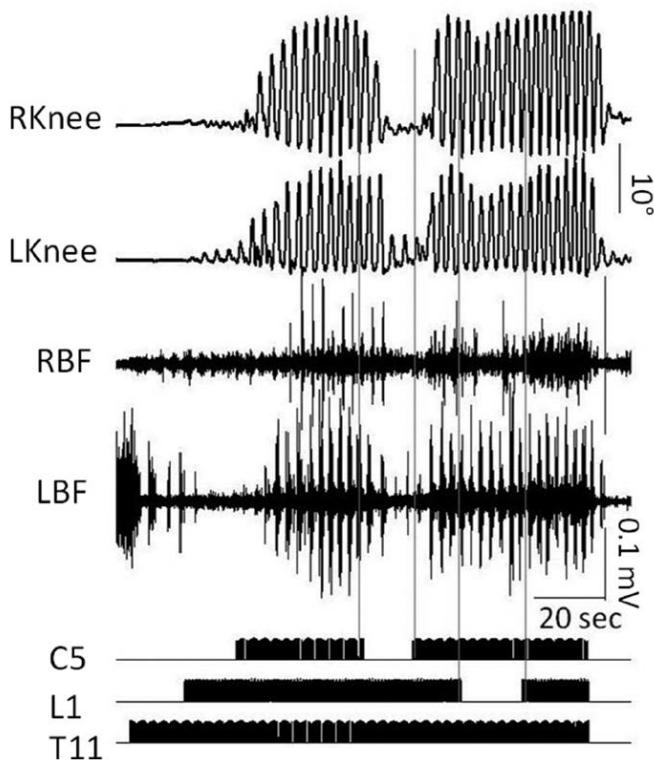


Рис. 4.13. Пример включения-выключения дополнительных уровней стимуляции. Показаны изменения угла в коленном суставе и ЭМГ активности m. biceps femoris правой и левой ноги. Обозначения те же, что на рис. 4.8. Исп. В.С. Цит. по (Gerasimenko et al., 2015).

На Рисунке 4.13 показано, как активность мышц и движения в коленном суставе реагируют на включение и выключение стимуляции на дополнительных уровнях. Выключение дополнительного уровня стимуляции вызывает уменьшение амплитуды движений в течение 1-

2 шагательных циклов, а добавление уровня стимуляции – увеличение амплитуды в течение тех же 1-2 циклов. Такие реакции наблюдали у всех испытуемых.

Таким образом, показано, что неинвазивная электростимуляция спинного мозга на двух и более уровнях влияет на паттерн вызываемых движений и, следовательно, может быть использована для управления этими движениями. Вероятно, этот факт связан с тем, что, стимулируя разные уровни спинного мозга, можно влиять на разные спинальные нейронные сети, по-разному регулирующие шагательный цикл. ЧССМ в верхней поясничной области вызывает движения, сходные с движениями, которые проявляются при других видах спинальной стимуляции.

Ранее было показано, что ростральная часть поясничного утолщения является тем самым локусом спинного мозга, стимуляция которого вызывает локомоторные движения у животных и человека. Шагоподобные движения могут быть вызваны при эпидуральной стимуляции этих участков спинного мозга децеребрированных и спинальных животных (Iwahara et al. 1991; Герасименко и др., 2001; Мусиенко, Богачева, Герасименко, 2005; Ichiyama et al., 2005), а также при внутриспинальной стимуляции этих локусов (Guevremont et al. 2006; Barthélémy et al. 2006, 2007). Также было показано, что не только в остром эксперименте, но и у хронически спинализированных животных эпидуральная стимуляция ростральной части поясничного утолщения спинного мозга вызывает шагоподобные движения (Герасименко и др., 2000; Lavrov et al. 2006). У спинальных пациентов в условиях компенсации веса ног эпидуральная электрическая стимуляция также вызывает шагоподобные движения (Dimitrijevic et al. 1998; Gerasimenko et al. 2001; Minassian et al. 2007; Harkema et al. 2011; Langlet et al., 2005; Hofstoetter et al., 2013; Minassian et al., 2013; Angeli et al., 2014; и др.).

Впервые мы продемонстрировали, что у человека существуют пути и нейронные сети, стимуляция которых может влиять на активность этих

уже хорошо известных поясничных локомоторных центров. В зависимости от комбинации активных нейронных сетей спинного мозга можно вызвать те или иные движения. Мы показали, что при многоуровневой стимуляции вызванные шагоподобные движения имеют большую амплитуду, чем при стимуляции на одном уровне, эффект очевиднее при последовательном добавлении уровней стимуляции, сначала T11, потом L1 и потом C5 (Рисунок 4.13).

Стимуляция шейного отдела спинного мозга усиливает эффект стимуляции локомоторных сетей, расположенных в поясничном утолщении спинного мозга. У квадрипедальных животных доказана функциональная связь между локомоторными сетями передних и задних конечностей (Шик, Орловский, 1965; Cazalets, Bertrand 2000; Ballion et al. 2001; Juvin et al. 2005, 2012), а также между локомоторными сетями рук и ног у человека (Zehr, Duysens, 2004; Zehr et al. 2009; Солопова и др., 2011; Sylos-Labini et al. 2014). Предполагается, что связь между шейной и поясничной локомоторными сетями осуществляется по длинным проприоспинальным связям (Yamaguchi, 1986). Недавно было показано, что у крыс при латеральной гемисекции спинного мозга локомоторные функции задних конечностей восстанавливаются в большем объеме, когда в локомоторные тренировки были вовлечены передние конечности, чем когда тренировки были без участия передних конечностей (Shah et al., 2013). Можно предположить, что этот эффект связан с перенастройкой ростро каудальных спинальных локомоторных сетей интернейронов, входящих в проприоспинальную систему. Показано, что у животных длинные проприоспинальные нейроны активируются при стимуляции периферических нервов передних конечностей (Lloyd, 1942; Schomburg et al., 1978; Menétry et al., 1985). У здоровых испытуемых в мышцах ног регистрировали значительное облегчение H-рефлекса с задержкой 100 мс при прекондиционирующей стимуляции срединного или локтевого нервов и это облегчение связывают с участием длинных проприоспинальных связей

(Meink, Piesiur-Strehlow, 1981; Delwaide, Crenna, 1983; Kagamihara et al., 2003). Возможно, стимуляция шейного отдела спинного мозга по длинным проприоспинальным связям вызывает тоническую активацию локомоторных сетей поясничного утолщения (Miller et al., 1998; Cowley et al., 2008). Ранее была высказана гипотеза о том, что нейроны проприоспинальной системы способны активировать спинальные интернейроны, участвующие в организации движений (Shik 1997; Jordan, Schmidt 2002). Наши наблюдения, связанные со стимуляцией шейного утолщения: у одного испытуемого (В.С., Рисунок 4.12) стимуляция вызывала движения ног, у всех испытуемых стимуляция шейного отдела в течение 1-2 шагательных циклов увеличивала амплитуду движений, вызванных стимуляцией поясничного утолщения (Рисунок 4.13), - подтверждают предположение о том, что проприоспинальная система модулирует активность спинальных локомоторных сетей. Таким образом, показано, что с помощью неинвазивной электростимуляции спинного мозга, влияя на проприоспинальную систему, можно изменять активность локомоторных центров, управлять вызванными движениями.

Еще в одной серии экспериментов была исследована возможность управления непроизвольными движениями у здоровых испытуемых с использованием технологии накожных электродных матриц, расположенных в проекции спинного мозга и корешков спинного мозга. Цель этого исследования – определение зависимости двигательных ответов от характеристик стимуляции (локус, временная и пространственная комбинация локусов, амплитуда и частота токов и т.п.).

Матрицу электродов (Рисунок 4.7.А) располагали накожно так, что верхняя тройка электродов находилась между позвонками Т11-Т12, активируя спинной мозг и дорсальные корешки спинного мозга на этом уровне. Рисунок 4.14А демонстрирует, что в зависимости от того, какие электроды, расположенные в тройке электродов между позвонками Т11-

T₁₂, активны, меняется картина вызванных шагательных движений, меняются фазы движений вперед и назад. Максимальная амплитуда движений в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах была зарегистрирована, когда были активны все три электрода, т.е. стимулировали спинной мозг и оба корешка спинного мозга. Рисунок 4.14Б демонстрирует, что не количество активных электродов, а их положение относительно спинного мозга определяет характер вызываемых движений.

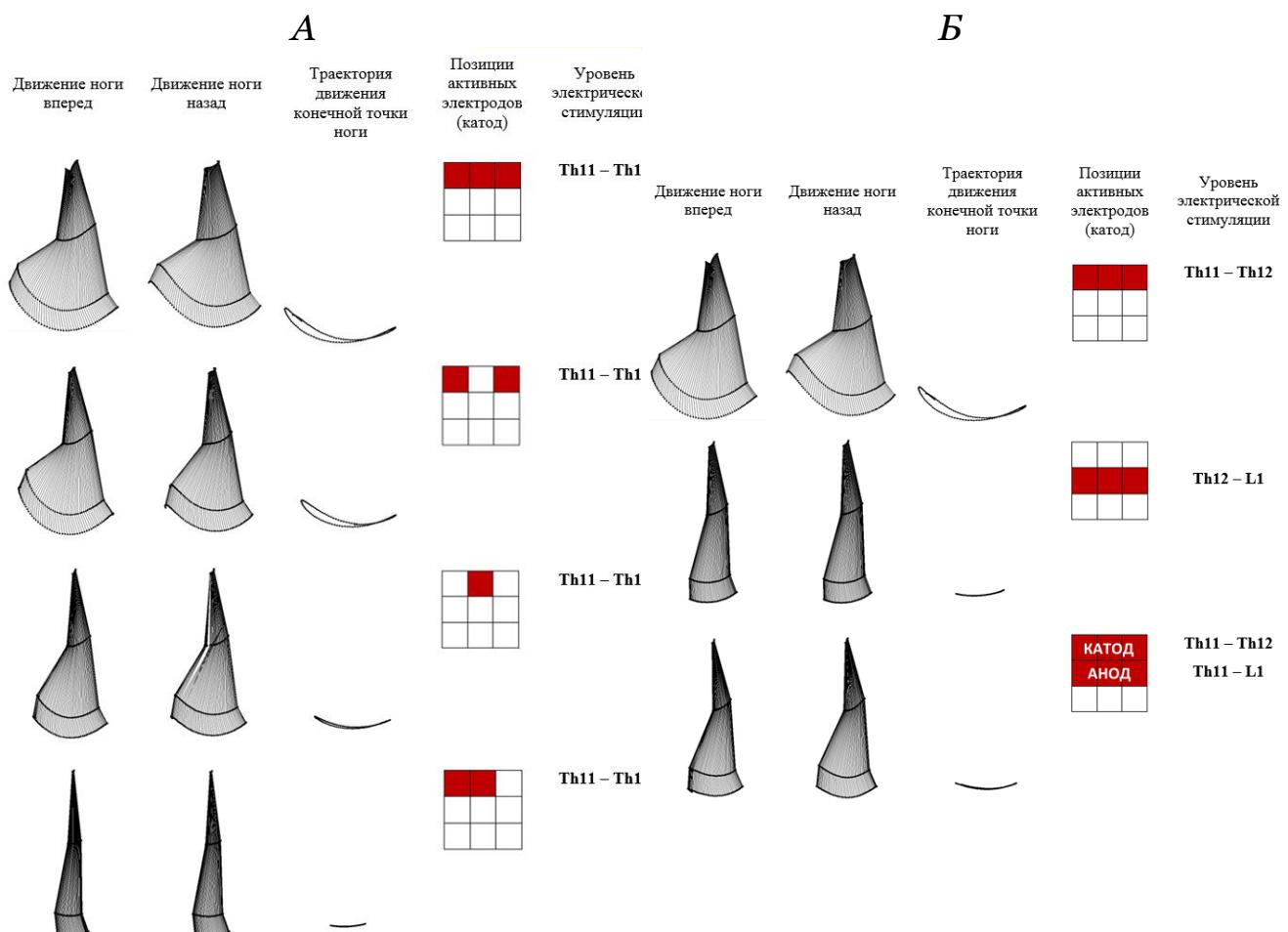


Рис. 4.14. Траектории движений ног, вызванных ЧССМ с помощью матрицы электродов. А – комбинации активных электродов на уровне T₁₁-T₁₂ позвонков. Б – варианты стимуляции спинного мозга на уровне T₁₁-T₁₂ и T₁₂-L₁. Слева показаны фазы шага при направлении движения ноги вперед и назад, далее – траектория движения конечной точки на ноге (по светоотражающему маркеру, закрепленному на большом пальце ноги), далее – активные электроды в матрице (красным цветом). Исп. Д.Г. Цит. по (Герасименко и др., 2015).

Можно было бы предположить, что чем больше задействованных электродов, т.е. чем больше суммарная интенсивность стимуляции, тем

больше амплитуда вызванных движений, однако не этот фактор, а место приложения стимуляции влияет на характеристики движений. При стимуляции с использованием тройки электродов, расположенных между позвонками T12-L1, амплитуда движений во всех суставах меньше, чем при стимуляции тройки электродов, расположенных между позвонками T11-T12. Положение пассивного электрода (анода) также влияет на характеристики вызываемых движений – когда анодом служили электроды между позвонками T12-L1 вместо стандартных, расположенных накожно над гребнями подвздошных костей, амплитуда движений в суставах была меньше, несмотря на то, что активные электроды (катод) находились между позвонками T11-T12.

Рисунок 4.15 демонстрирует количественные соотношения между амплитудами движений в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах при разных позициях стимулирующих электродов. Меняя набор активных электродов, длительность стимуляции, можно влиять на амплитуду движений в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах. Движения в голеностопном суставе получалось вызывать при одновременной стимуляции нижнего ряда электродов, расположенного на уровне L1-L2 позвонков и одного или двух верхних рядов электродов в матрице, в иных случаях движения в голеностопном суставе отсутствовали.

Таким образом, ЧССМ с использованием матрицы электродов, позволяющей распределять активность между разными структурами в пределах поясничного утолщения, вызывает координированные шагательные движения в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах и обеспечивает возможность управления этими движениями, влияя на амплитуду движений в суставах. Этот метод может быть использован для моделирования двигательного поведения в экспериментах на человеке и животных, для изучения механизмов управления

движениями, а также в медицине для создания неинвазивных методов лечения и реабилитации людей с вертебро-спинальной патологией, а также для замещения утраченной возможности выполнения произвольных движений.

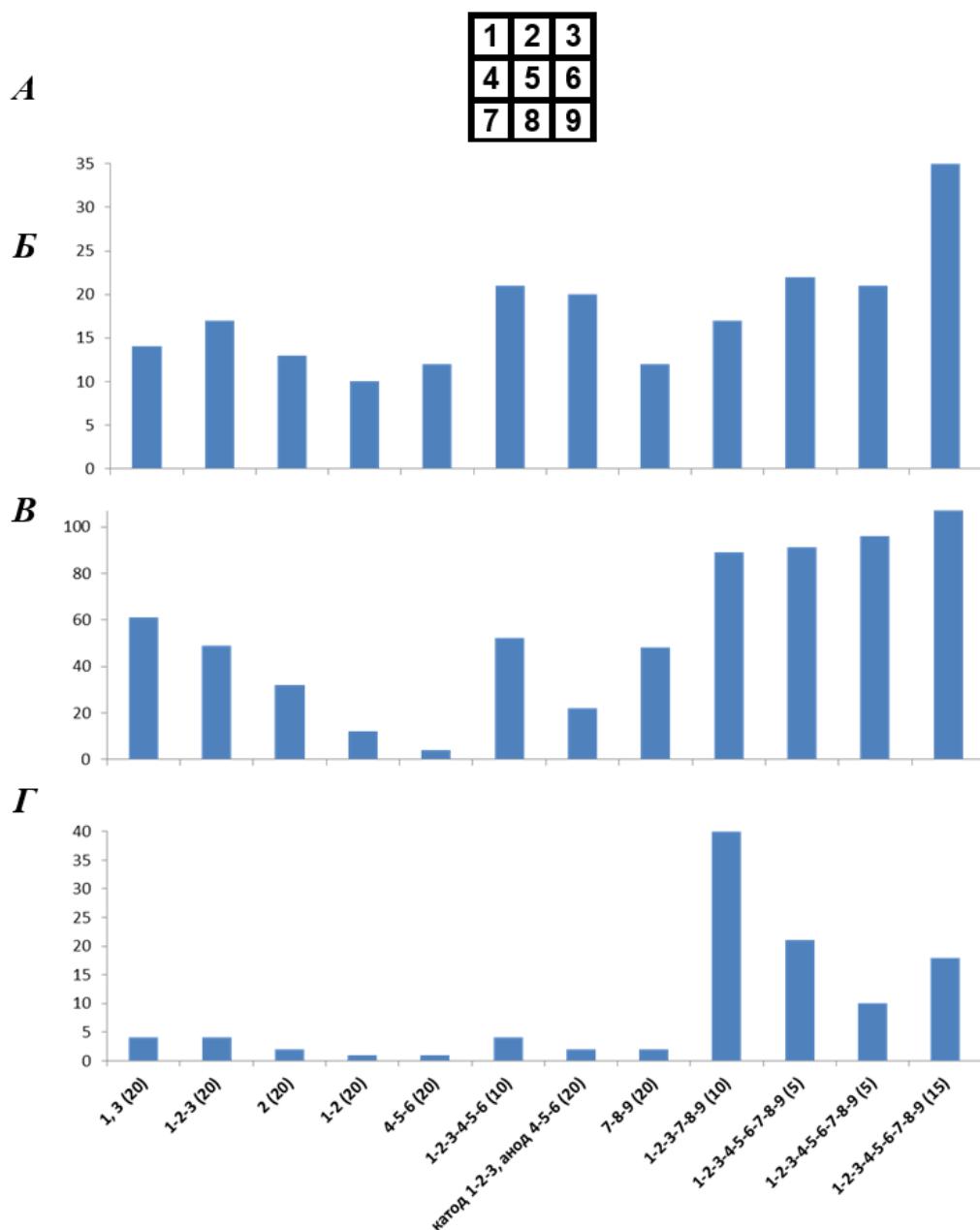


Рис. 4.15. А. Нумерация электродов матрицы. Электроды 1-3 располагали между позвонками T11-T12, электроды 4-6 – между позвонками T12-L1, электроды 7-9 – между позвонками L1-L2. Электроды 2, 5, 8 располагали над осевой линией спинного мозга, остальные электроды – над корешками спинного мозга. Амплитуды движений, вызываемых в тазобедренном (Б), коленном (В) и голеностопном (Г) суставах, в угловых градусах, активные электроды перечислены под осью абсцисс, в скобках – длительность ЧССМ в секундах. Цит. по (Герасименко и др., 2015).

В исследованиях на животных также было показано, что, воздействуя непосредственно на спинной мозг, можно не только инициировать движения, но и управлять этими движениями. В 2011 г. было опубликованы результаты экспериментов, в которых крысам с полным перерывом спинного мозга ниже места травмы в области поясничного утолщения на поверхность спинного мозга вживляли матрицу электродов 3*9 (Nandra et al., 2011). Авторы показали, что, активируя разные электроды в пределах матрицы, можно вызывать непроизвольные шагательные движения у крыс с разными характеристиками, увеличивая или уменьшая фазы опоры и переноса или полностью разрушая шагательный паттерн. Таким образом, еще раз было продемонстрировано, что можно не только вызывать непроизвольные шагательные движения в отсутствии сураспинальных связей, но и управлять этими движениями. В 2011 г. на Neuroscience Meeting было сделано сообщение об использовании электродной матрицы для стимуляции спинного мозга (Willhite et al., 2011). Пациенту с нарушением проводимости на С7 уровне спинного мозга имплантировали матрицу электродов в область поясничного утолщения. Регистрировали моторные ответы 14 мышц ног при активации электродов матрицы, меняя интенсивность импульсов, частоту стимуляции и активный электрод. Было показано, латентный период и величина ответа каждой из мышц зависела от локализации активного электрода на поверхности мозга и от параметров стимуляции.

В декабре 2013 года появилась публикация (Krenn et al., 2013), содержащая отдельные признаки полученного нами результата ЧССМ с использованием матрицы электродов. Авторы сообщили о чрескожной электрической стимуляции спинного мозга и дорсальных корешков спинного мозга в области Т11-Т12 позвонков с использованием одиночных бифазных импульсов с помощью электродов, наклеенных на спину испытуемого в виде матрицы. Этот способ позволяет зарегистрировать рефлекторные сокращения мышц ног на каждый импульс, амплитуда

и форма которых зависит от места приложения импульсов. Оригинальность полученных нами результатов использования матрицы электродов для ЧССМ состоит в том, что указанный выше способ (Krenn et al., 2013) вызывает рефлекторные ответы мышц ног, но не вызывает движения ног и не обеспечивает управление этими движениями. Мы впервые показали, что при использовании матрицы электродов для ЧССМ можно не только вызывать двигательные ответы с разными характеристиками этих ответов, но вызывать непроизвольные шагательные движения и управлять этими движениями у здоровых испытуемых.

4.3. Эффекты сочетанной электрической стимуляции спинного мозга и аfferентной стимуляции в регуляции локомоторной активности

Многочисленные исследования доказали, что афферентная система играет ключевую роль в организации двигательного поведения и, в частности, в организации локомоции (Козловская, 1976; Conway et al., 1987; Григорьев и др., 2004; и др.). Вибрация мышц шеи изменяет параметры произвольной ходьбы человека (Ivanenko et al., 2000; Bove et al., 2001). Вибрация мышц голени влияет на характеристики произвольной и адаптивной ходьбы, на особенности поддержания вертикальной позы (Sorensen et al., 2002; Verschueren et al., 2002; Казенников и др., 2014). На здоровых добровольцах было показано, что стимуляция афферентов мышц ног может вызывать непроизвольные локомоторные движения при условии обезвешивания ног в горизонтальной вывеске: вибрация, прикладываемая к мышцам нижних конечностей (Гурфинкель и др., 1998), электрическая стимуляция их периферических нервов (Selionov et al., 2009), а также механическая стимуляция опорной поверхности стоп (Томиловская и др., 2013) вызывают непроизвольные шагательные движения.

Задача следующего этапа нашей работы – исследовать, как стимуляция афферентов, а именно вибростимуляция мышц и сухожилий верхних и нижних конечностей, а также стимуляция опорной поверхности стоп влияет на паттерн шагательных движений, вызываемых ЧССМ.

4.3.1. Материалы и методы

Характеристики испытуемых, инструкции испытуемым, устройства для проведения ЧССМ и регистрации движений, метод анализа движений и т.д. – всё то же, что описано в разделе 4.1.

Исследования влияния вибростимуляции мышц и сухожилий верхних и нижних конечностей на характеристики движений, вызываемых ЧССМ, проводили при следующих условиях:

- 1) отсутствие вибрации,
- 2) при вибрации правой руки (вибрация сухожилия m. biceps brachii в течение 15 с, с последующей ЧССМ в течение 30 с на фоне вибрации),
- 3) при вибрации правой ноги (вибрация сухожилия m. rectus femoris в течение 15 с, затем ЧССМ в течение 30 с на фоне вибрации),
- 4) одновременная вибрация руки и ноги справа (вибрация руки в течение 15 с, добавляли вибрацию ноги на 15 с, потом проводили ЧССМ в течении 30 с на фоне двойной вибрации).

Испытуемые (4 добровольца) во время исследований находились в положении лежа на левом боку с ногами, вывешенными в рамках качелях, как описано в разделе 4.1.

Для проведения ЧССМ электрод располагали по средней линии позвоночника на уровне грудных позвонков T11 и T12 между остистыми отростками. Использовались стимулы интенсивностью от 30 до 100 мА, с частотой стимуляции 5 и 30 Гц, длительность воздействия составляла 15 или 30 с.

Для вибростимуляции использовали вибраторы-электродвигатели постоянного тока ДПМ-30-Н-01, снабженные эксцентриком (ОАО

"Псковский электромашиностроительный завод"). Цилиндрические вибраторы диаметром 33 мм и длиной 90 мм прикреплялись к ноге и/или руке при помощи резинового бинта. Применявшаяся частота вибрации находилась в диапазоне 50-70 Гц, амплитуда колебаний составляла 0,8 мм и не зависела от силы прижатия вибраторов.

Исследования влияния стимуляции опорной поверхности стоп на характеристики движений, вызываемых ЧССМ, проводили при следующих условиях:

Испытуемые (6 добровольцев) располагались в системе поддержки веса тела (100% компенсация веса тела) над беговой дорожкой (Hp Cosmos Gaitway) (Рисунок 4.20В, F).

Сначала проверяли возможность вызвать шагательные движения ног с помощью ЧССМ или с помощью стимуляции опорной поверхности стоп (СОПС). Потом исследовали влияние ЧССМ и/или СОПС на характеристики произвольных шагательных движений; СОПС и/или ЧССМ проводили через 30 с после произвольных шагательных движений ног "в воздухе", стимуляция длилась, по меньшей мере, 30 с.

Электроды для ЧССМ (как в разделе 4.1) располагали на трех уровнях, между остистыми отростками T11-T12, T12-L1 и L1-L2 позвонков. Интенсивность стимуляции подбирали так, чтобы вызывать непроизвольные ритмические движения ног. Частота стимуляции 30 Гц.

Для механической СОПС использовали прибор КОР (компенсатор опорной разгрузки), разработанный совместно ГНЦ РФ – ИМБП РАН и НПО Звезда. Прибор состоит из пневмоблока, подающего воздух под давлением до 40 кПа к пневмостелькам, располагающимся в обуви испытуемого под пяткочной и предплюсневой областями обеих ног. КОР обеспечивает механическую стимуляцию опорных зон стоп в режиме естественных локомоций (75 и 120 шаг/мин – медленная и быстрая ходьба, соответственно).

4.3.2. Результаты и обсуждение

На Рисунке 4.16 показаны изменения суставных углов и координация движений тазобедренного, коленного и голеностопного суставов при выполнении шагательных движений, траектории движения большого пальца при произвольных движениях и движениях, вызванных ЧССМ с частотой 5 Гц в отсутствие и при подключении вибрации.

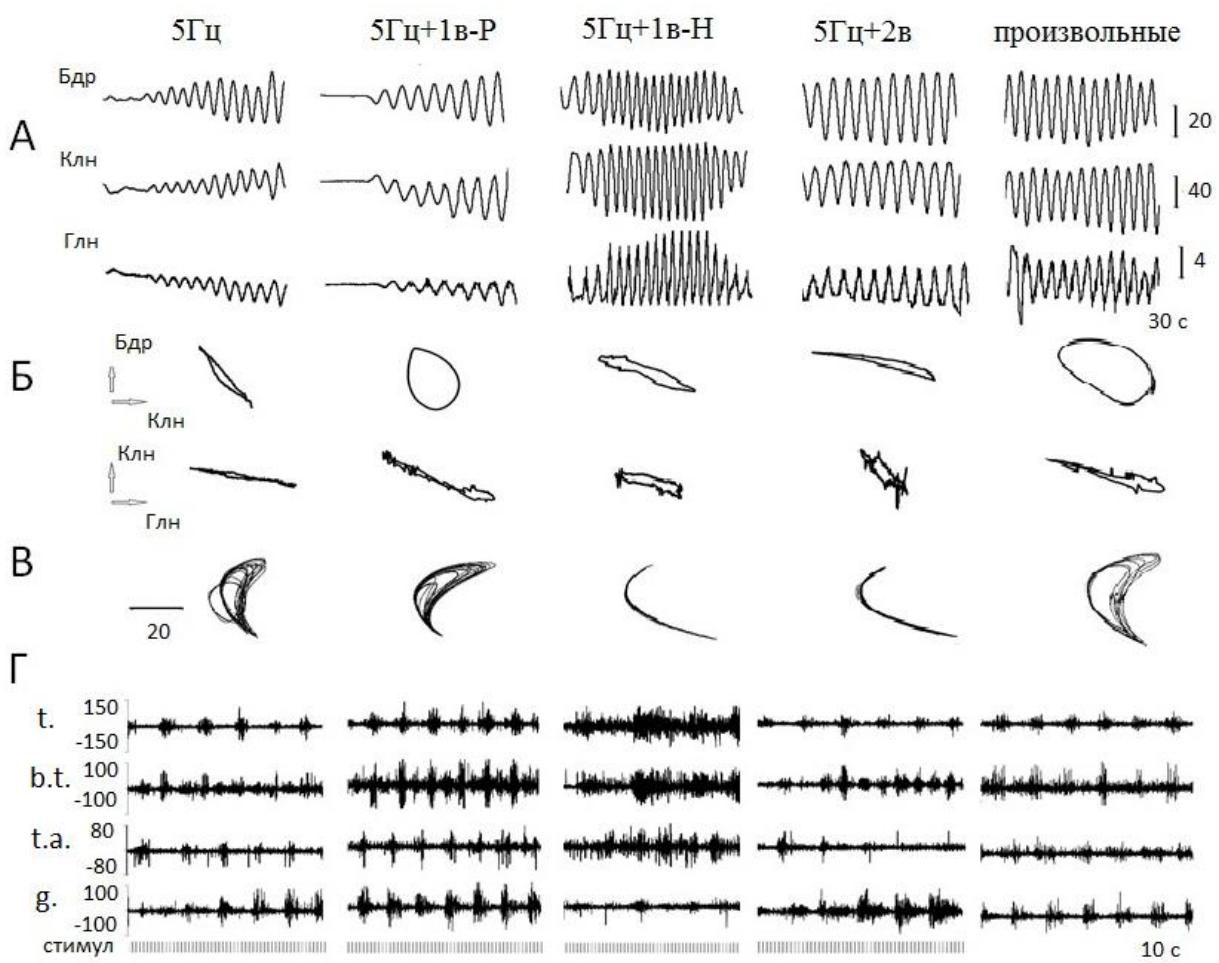


Рис. 4.16. Эффекты условий стимуляции при ЧССМ в сочетании с вибростимуляцией в экспериментах с испытуемым С. Движения показаны от момента включения ЧССМ. А: Изменения суставных углов при ЧССМ с частотой 5 Гц, ЧССМ на фоне вибрации на руке, ноге, двух вибраторов одновременно и при произвольных движениях, длительность регистрации 30 с от начала ЧССМ. Справа: масштаб, угловые градусы. Б: Координация движений суставных углов. В: Траектория движений большого пальца ноги. Слева: масштаб, см. Г: ЭМГ записи длительностью 10 с, начиная от 20 с после начала ЧССМ, записи мышц femoris (f), m. biceps femoris (b.f.), m. tibialis anterior (t.a.) и m. gastrocnemius (g). Нижний ряд – отметка стимула. Слева: масштаб, мВ. Цит. по (Щербакова и др., 2016).

На Рисунке 4.16А видно, что в случае использования только ЧССМ и ЧССМ на фоне вибрации, приложенной к мышцам руки, движения вызывались с **большей** задержкой (~6 с), чем при ЧССМ на фоне вибрации ноги (~3 с) и одновременной вибрации ноги и руки (без задержки); при этих условиях дольше увеличивалась амплитуда движений (максимальная амплитуда движений при ЧССМ и ЧССМ на фоне вибрации руки достигалась через 20-25 с, при вибрации ноги и ноги и руки – через 10-12 с). ЭМГ записи (Рисунок 4.16Г) характеризуют активность мышц голени при сформированном движении, они зарегистрированы через 20 с после начала ЧССМ при всех условиях стимуляции. ЭМГ активность мышц голени при всех видах стимуляции соответствует активности мышц при произвольных шагательных движениях (пачечная и реципрокная активность).

При ЧССМ на фоне любого вида вибрации амплитуда шага у всех испытуемых была больше, чем при ЧССМ без вибрации. Величина прироста амплитуды была разной у разных испытуемых, но не превышала 100%, и только у испытуемого С. наблюдалось увеличение до 6 раз. Результаты, усредненные по всем испытуемым, для ЧССМ с частотами 5 и 30 Гц показаны на Рисунке 4.17А. При ЧССМ 30 Гц изменения амплитуд движений при подключении вибрации были значительно меньше, чем при ЧССМ 5 Гц, при более высоких абсолютных значениях амплитуд. Амплитуда вызванных движений при ЧССМ и при сочетании ЧССМ с вибрацией никогда не достигала амплитуды произвольных движений; отношение максимальной амплитуды вызванных движений к амплитуде произвольных у всех испытуемых было в пределах 0.1-0.96.

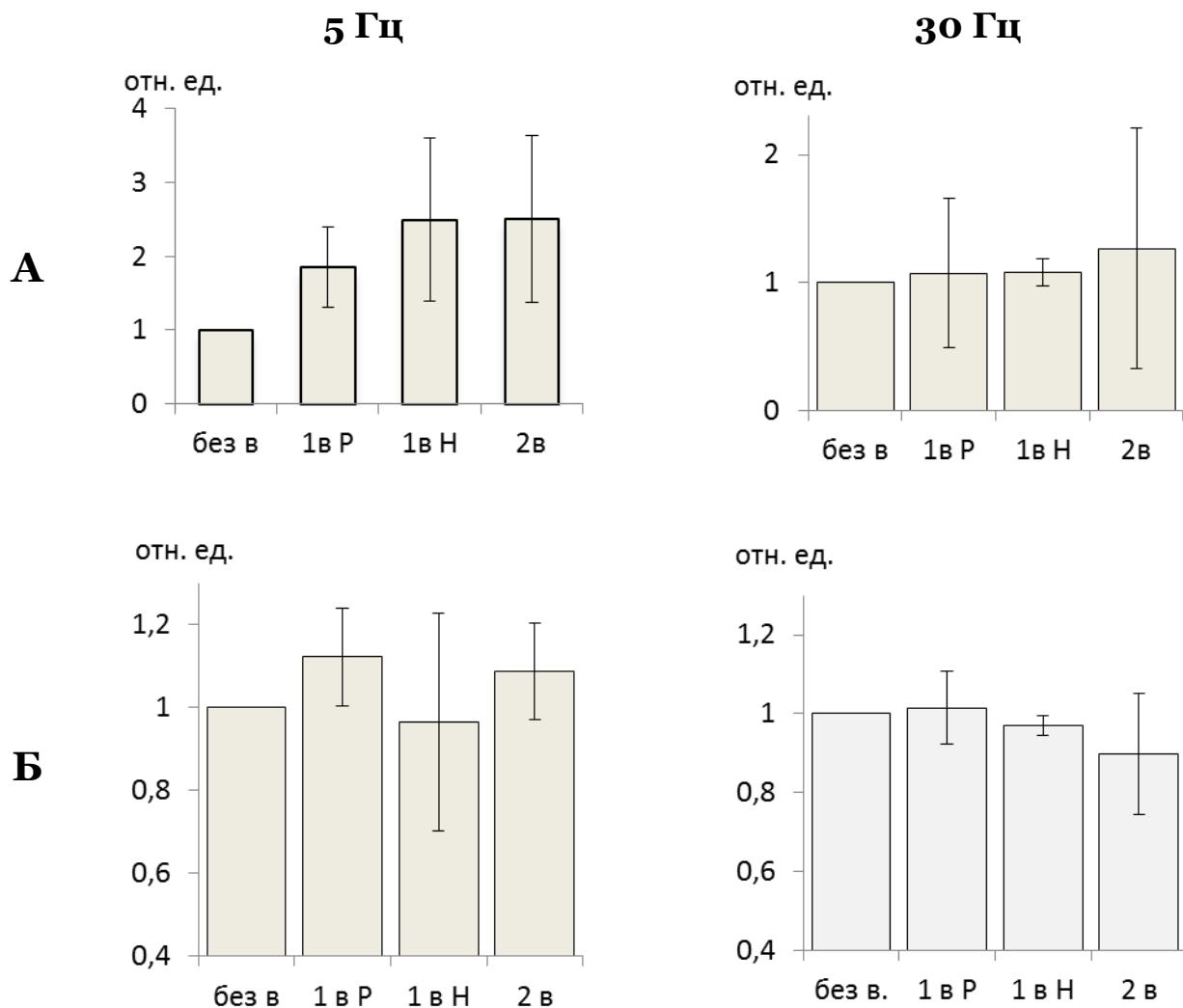


Рис. 4.17. А. Изменения амплитуды движений ноги, вызванных ЧССМ в сочетании с вибрацией руки (1в Р), ноги (1в Н) и вибрацией руки и ноги одновременно (2в), относительно амплитуды при ЧССМ (без вибрации), относительные единицы. Слева – при частоте ЧССМ 5 Гц, справа – при частоте ЧССМ 30 Гц. Б. Изменения средней длительности шагов, вызванных ЧССМ в сочетании с вибрацией руки (1в Р), ноги (1в Н) и вибрацией руки и ноги одновременно (2в), относительно длительности при ЧССМ (без вибрации), относительные единицы. Слева – при частоте ЧССМ 5 Гц, справа – при частоте ЧССМ 30 Гц. Цит. по (Щербакова и др., 2016).

Общей для всех испытуемых закономерности в степени изменения амплитуды шага в зависимости от места приложения вибрации (нога или рука) не наблюдали. При ЧССМ 5 Гц у двух из четырех испытуемых увеличение было сильнее при вибрации руки, чем при вибрации ноги, и у двух испытуемых использование двух вибраторов вызывало большее увеличение, чем при одном вибраторе на руке или на ноге (Рисунок 4.18). При ЧССМ 30 Гц практически у всех испытуемых вибрация, приложенная к мышцам руки, вызывала большее увеличение амплитуды, чем вибрация

мышц ног, а использование двух вибраторов вызывало наибольшее увеличение (Рисунок 4.19).

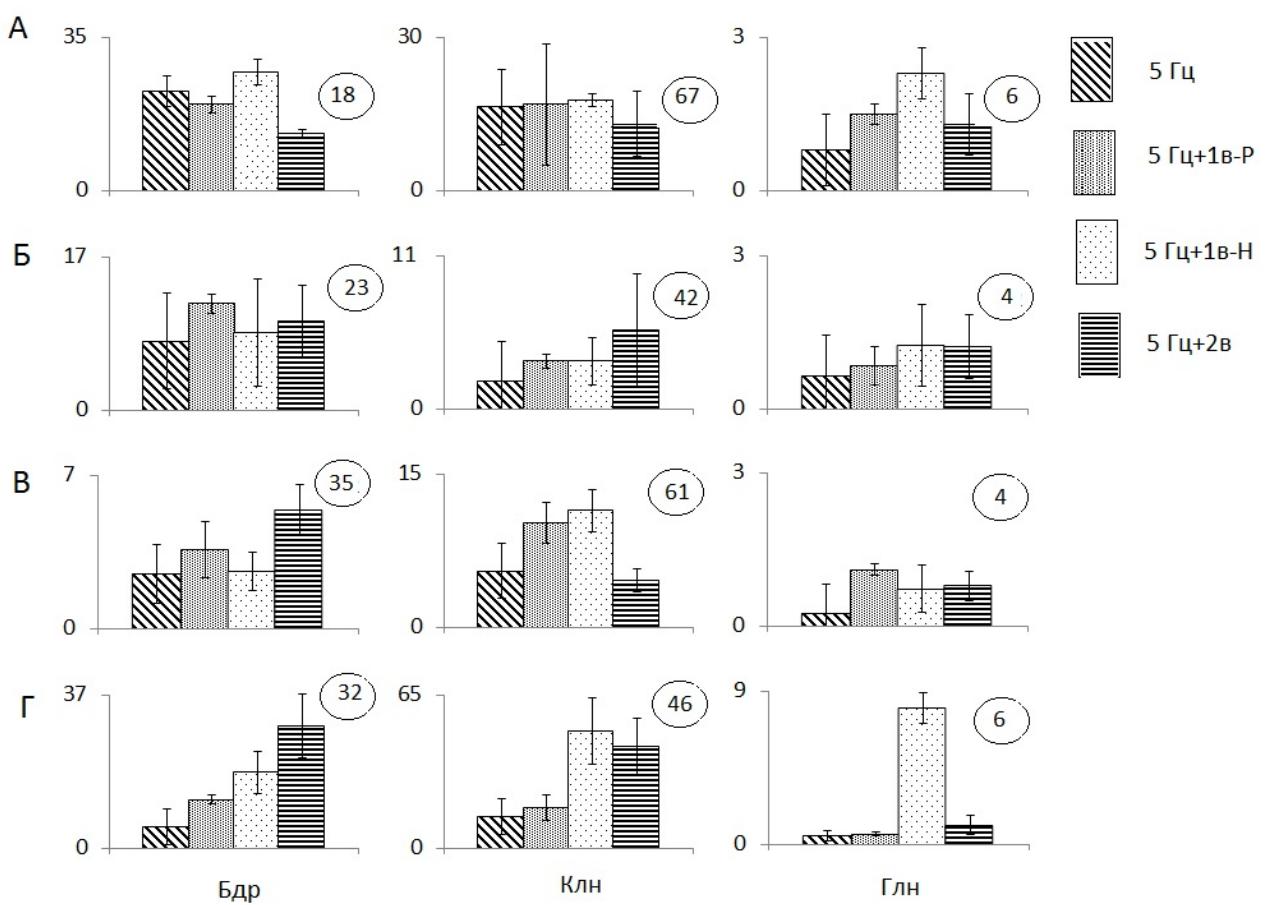


Рис. 4.18. Изменения амплитуды движений при ЧССМ с частотой 5 Гц с вибрацией или без для испытуемых Г. (А), К. (Б), Б. (В), С. (Г); в угл. град. Бдр – тазобедренный, Клн – коленный, Глн – голеностопный суставы. Остальные обозначения как в тексте. В овальных рамках приведены средние амплитуды движений при произвольных шагательных движениях. Цит. по (Щербакова и др., 2016).

Анализ амплитуды изменения суставных углов при движении выявил некоторые особенности эффектов сочетания ЧССМ с вибрацией в отдельных суставах, различные в зависимости от частоты ЧССМ. При ЧССМ 5 Гц в большинстве случаев наблюдали увеличение амплитуды движений всех суставов при подключении вибростимуляции мышц любой конечности, а при ЧССМ 30 Гц при подключении вибростимуляции направление изменения амплитуды движений всех суставов у трех испытуемых варьировало (Рисунки 4.18, 4.19).

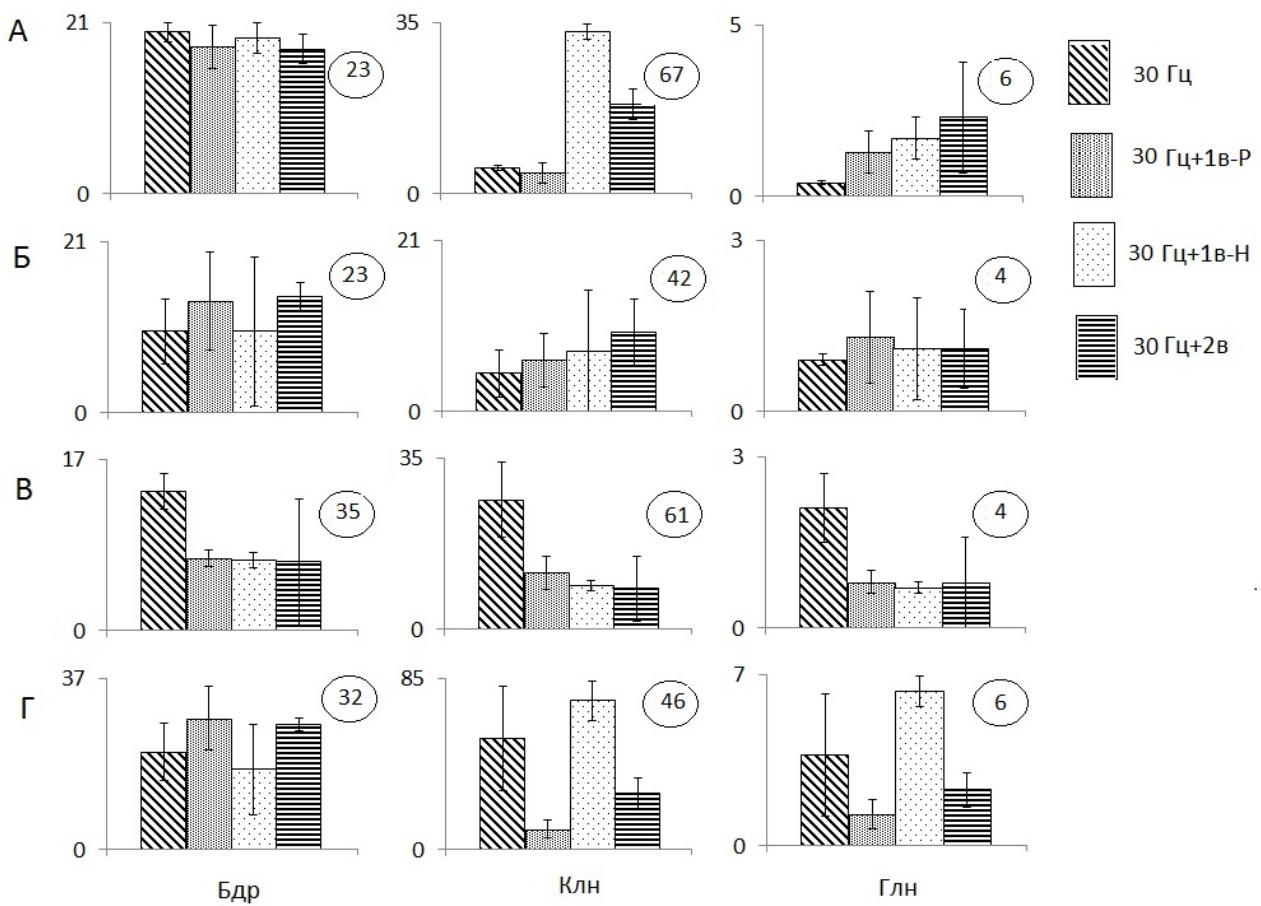


Рис. 4.19. Изменения амплитуды движений суставов при ЧССМ с частотой 30 Гц с вибрацией или без для испытуемых Г. (А), К. (Б), Б. (В), С. (Г); в угл. град. Обозначения те же, что на рис. 4.18. Цит. по (Щербакова и др., 2016).

Усредненные для всех испытуемых относительные изменения длительности шага, определенной по циклу движений большого пальца ноги, на фоне вибрации при ЧССМ 5 и 30 Гц, показаны на Рисунке 4.17Б. Значимые изменения средней длительности шага наблюдались при частоте 5 Гц на фоне вибрации руки и с двумя вибраторами по сравнению с условиями без вибрации. У всех испытуемых длительность шага увеличивалась на 4-28%. При сочетании ЧССМ с вибрацией ноги наблюдалось уменьшение длительности шага у двух испытуемых на 12% и 35%. При ЧССМ 30 Гц значимых изменений длительности шага не наблюдалось, у всех испытуемых длительность шага на фоне вибрации практически не изменялась или наблюдалось уменьшение длительности шага на 4-8%. В сравнении с произвольными движениями, длительность вызванных шагов у троих испытуемых была больше на 6-47%,

у испытуемого С. при ЧССМ в сочетании с вибрацией ноги и с двойной вибрацией наблюдалось увеличение частоты шагов (уменьшение длительности шага) на 20%.

Таким образом, вибрация сухожилий руки и ноги влияет на паттерн движений, вызываемых ЧССМ, а именно увеличивает амплитуду движений ног. Влияние вибрации на кинематические характеристики движений больше проявляются при ЧССМ 5 Гц, чем при 30 Гц. Увеличение амплитуды движений, как правило, больше при сочетании ЧССМ с вибрацией ноги, чем с вибрацией руки.

При вертикальном положении испытуемых (Рисунок 4.20В, F) ЧССМ вызывала непроизвольные шагательные движения ног у всех испытуемых при 100% компенсации веса тела. Шагания начинались с ритмических движений в коленном суставе, чему соответствовало появление активности группы мышц mm. semitendinosus, semimembranosus, biceps femoris, отвечающих за сгибание в коленном суставе и разгибание бедра (Рисунок 4.20А, Е). В процессе стимуляции амплитуда движений в тазобедренном и коленном суставах увеличивалась (Рисунок 4.20Н), а у некоторых испытуемых в движение вовлекался голеностопный сустав (Рисунок 4.20Д).

Стимуляция опорной поверхности стопы (СОПС) оказывала разное влияние на разных испытуемых: пятеро из шести испытуемых были чувствительны к механическому воздействию на опорную поверхность стоп. В ответ на СОПС возникала активность в мышцах голени, появлялись движения сначала в голеностопном, а потом в коленном суставе (Рисунок 4.20А).

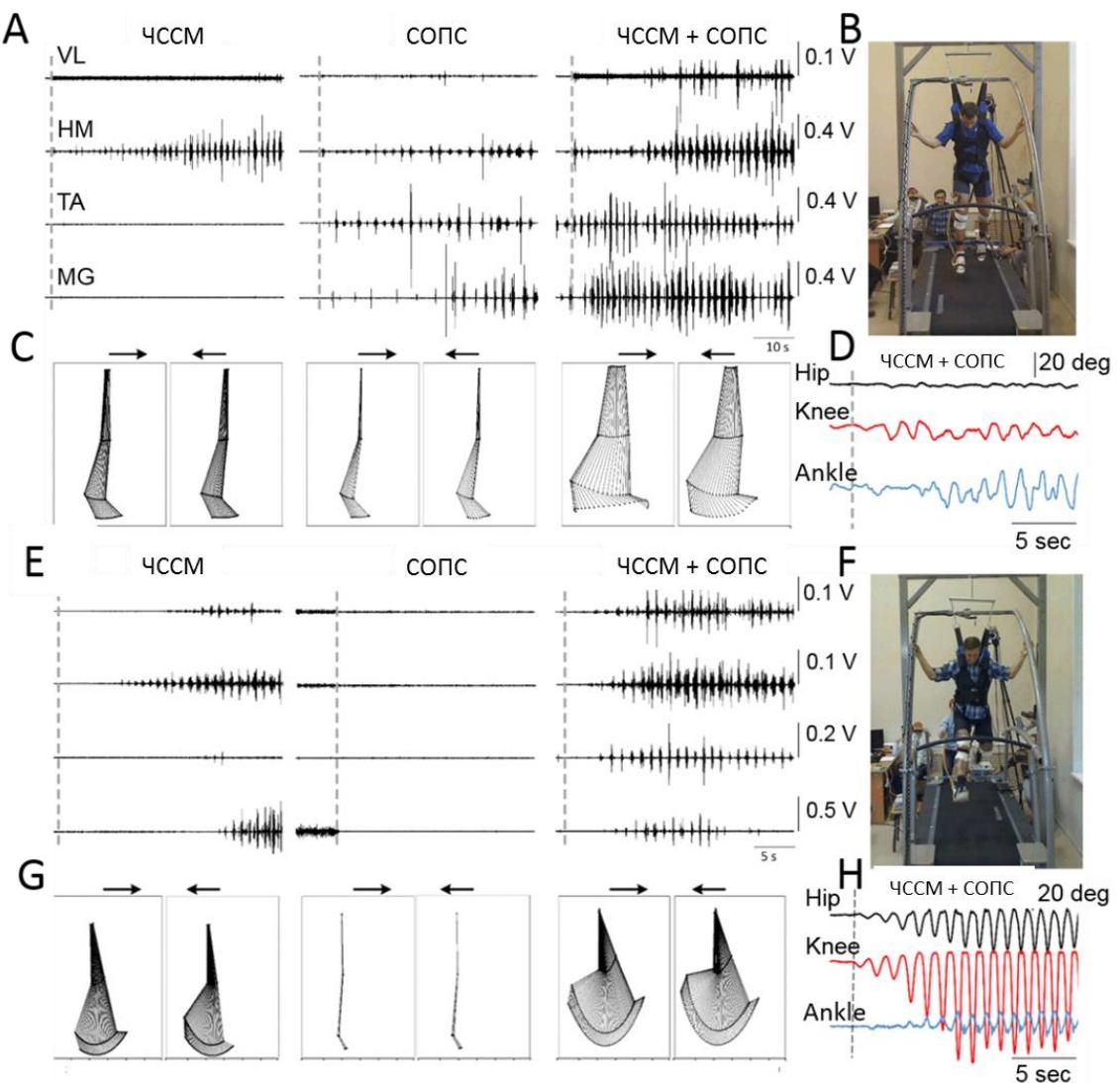


Рис. 4.20. Характеристики движений ног, вызванных ЧССМ 30 Гц и СОПС или их сочетанием у испытуемых ДГ и ВС при 100% компенсации веса тела (А-Д и Е-Н, соотв.). А, Е: ЭМГ записи m. *vastus lateralis* (VL), комбинации mm. *semitendinosus*, *semimembranosus*, biceps femoris (Ham от “hamstring”), m. *gastrocnemius med.* (MG), m. *tibialis anterior* (TA). В, F: положение испытуемых во время стимуляции. С, G: стик-диаграммы, воспроизводящие движения правой ноги во время одного шагательного цикла, стрелки показывают направление движения. Д, Н: Изменения угла в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах правой ноги при сочетании СОПС и ЧССМ. Цит. по (Gerasimenko et al., 2016).

У одного из испытуемых СОПС не вызывала активности в регистрируемых мышцах и не вызывала движений (Рисунок 4.20Е, Г). У всех испытуемых сочетание ЧССМ+СОПС вызывало хорошо координированные движения ног, даже у того испытуемого, на которого СОПС не оказывало влияния (Рисунок 4.20Е, Г). При ЧССМ+СОПС, дляящихся 30 с, наблюдались шагательные движения большой амплитуды

и соответствующая этим движениям пачечную электрическую активность всех регистрируемых мышц (Рисунок 4.20А, Е).

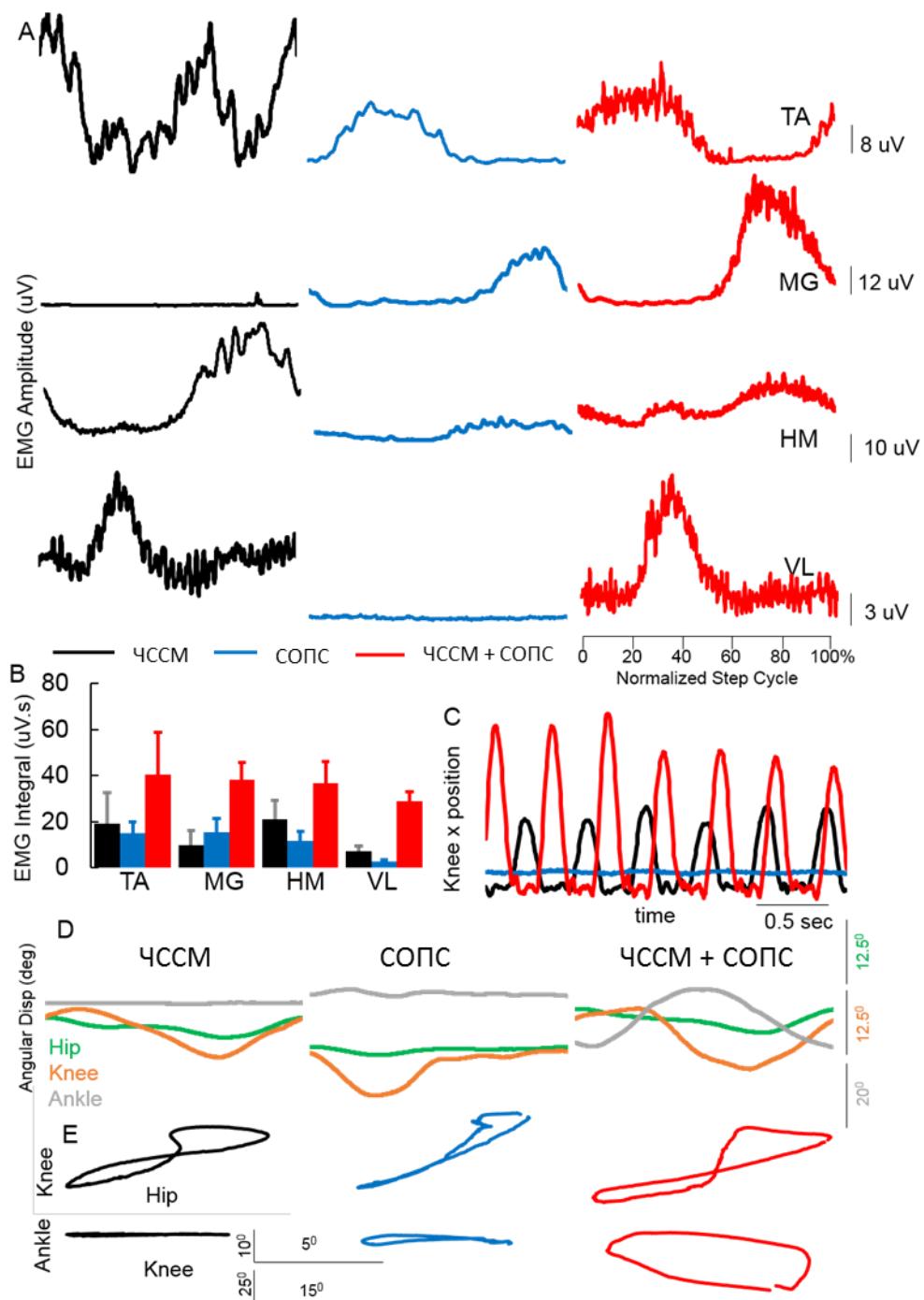


Рис. 4.21. Харктеристики непроизвольных движений ног при стимуляции спинного мозга и/или опорной поверхности стоп, усреднено по всем испытуемым ($n=6$). А: ЭМГ активность за один шагательный цикл. В: Интегральная ЭМГ активность за один шагательный цикл. С: Изменение угла в коленном суставе в сагиттальной плоскости. Д: Изменение угла в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах за один шагательный цикл. Е: Координация движений в тазобедренном и коленном, а также в коленном и голеностопном суставах за один шагательный цикл. Остальные обозначения как на рис. 4.20. Цит. по (Gerasimenko et al., 2016).

На Рисунке 4.21 показаны обобщенные данные для всех испытуемых, характеристики ЭМГ были нормализованы за один шагательный цикл и усреднены. Хорошо видно чередование активности мышц-антагонистов при ЧССМ+СОПС (Рисунок 4.21А). Уровень активности мышц при двойной стимуляции больше, чем при любой из одиночных стимуляций (Рисунок 4.21В). Рост электрической активности мышц коррелирует с движениями во всех суставах, движения хорошо скоординированы (Рисунок 4.21С, D). Амплитуды смещений в суставах при двойной стимуляции (Рисунок 4.21D, E).

Пример влияния ЧССМ и СОПС на характеристики произвольных движений показан на Рисунке 4.22. Любая из использованных стимуляций меняла паттерн ЭМГ активности (Рисунок 4.22А, D) и увеличивала амплитуду движений в суставах (Рисунок 4.22В, Е).

Добавление к произвольным движениям любого вида нейромодуляции изменяло паттерн кинематики движений и активности мышц (Рисунок 4.23А-С). Так же, как и в случае с вызовом непроизвольных движений, максимальное изменение рассматриваемых параметров было при двойной стимуляции (ЧССМ+СОПС). У разных испытуемых мы наблюдали разнонаправленную модуляцию этих параметров при единичной стимуляции (ЧССМ или СОПС), но при двойной стимуляции всегда была тенденция к увеличению значений (Рисунок 4.23D).

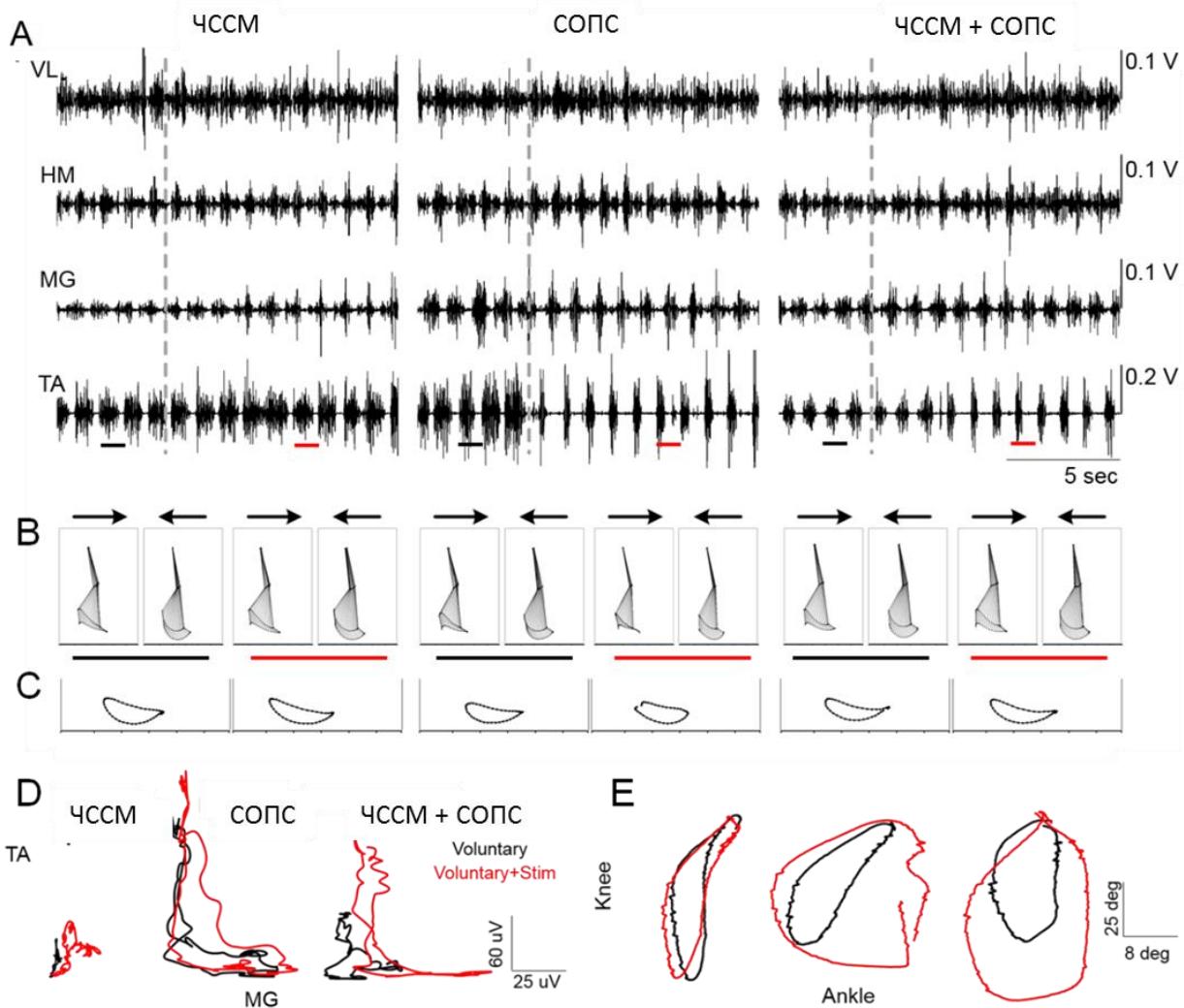


Рис. 4.22. Влияние стимуляции спинного мозга и/или опорной поверхности стоп на произвольные шагательные движения. А: Электрическая активность мышц правой ноги, начало стимуляции во время шагательных движений показано пунктирной линией. В: Стик диаграммы реконструируют движение правой ноги во время одного цикла произвольного шагательного движения и при каждом из видов стимуляции, стрелочки показывают направление движения. С: Траектория конечной точки правой ноги (маркер на большом пальце) во время шагательного цикла. Д: Взаимораспределение амплитуд электрической зависимости мышц голени при произвольных движениях и стимуляциях за один шагательный цикл (усреднение, $n=6$). Е: Координация движений в коленном и голеностопном суставах при произвольных движениях и стимуляциях за один шагательный цикл (усреднение, $n=6$). Остальные обозначения как на рис. 4.20. Цит. по (Gerasimenko et al., 2016).

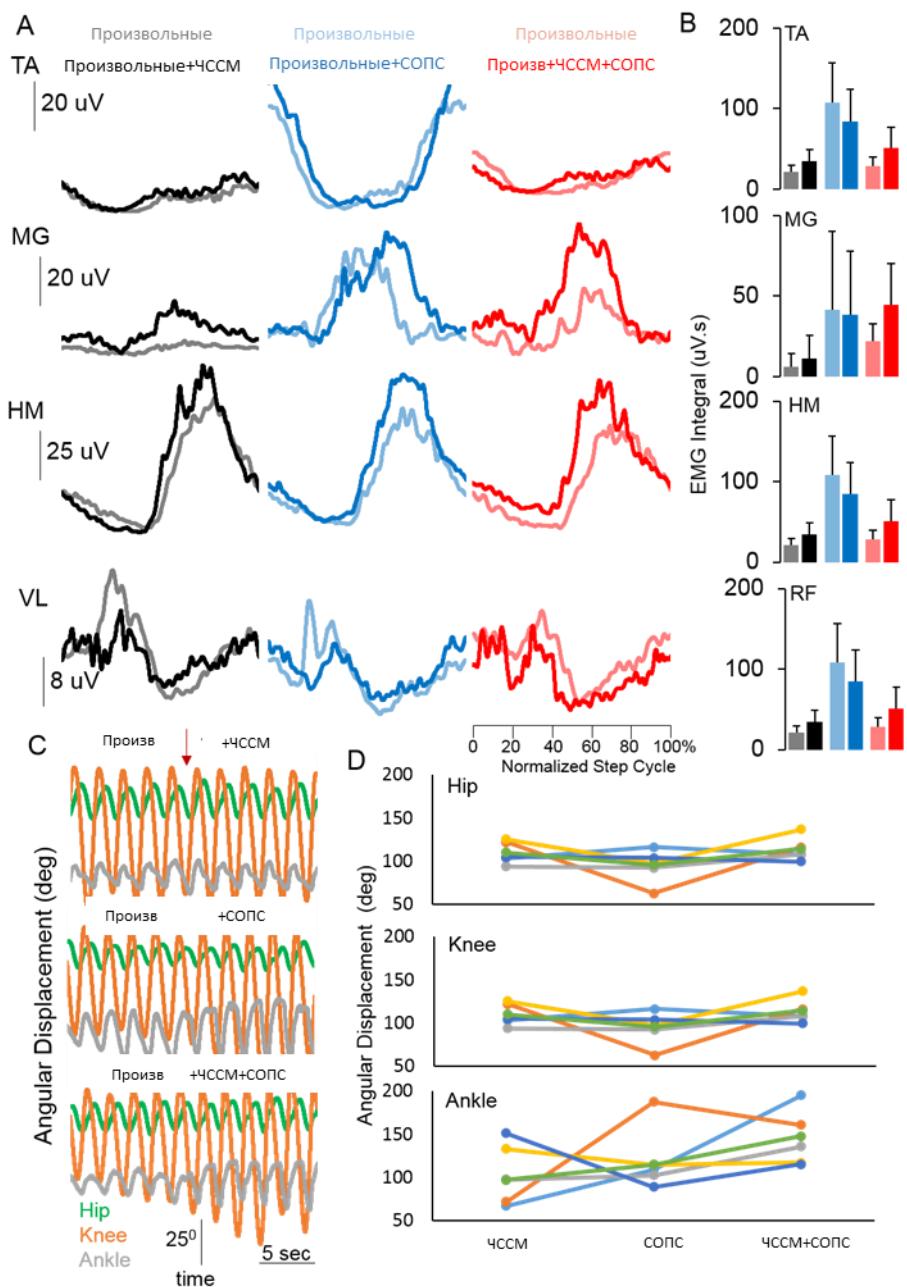


Рис. 4.23. Характеристики произвольных движений и произвольных в сочетании с разными видами стимуляции. А и В: огибающая ЭМГ активности и интеграл ЭМГ активности (среднее ± стандартное отклонение), соответственно, усредненные за один нормированный шагательный цикл (6 испытуемых, ~10 циклов). С: изменения угла в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах. Д: индивидуальные изменения угла в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах, испытуемые обозначены разными цветами. Цит. по (Gerasimenko et al., 2016).

В результате этого исследования получено, что при вертикальном положении испытуемого, при 100% компенсации веса тела активация спинальных локомоторных сетей (ЧССМ) и стимуляция афферентов (СОПС), а также их совместное использование могут вызывать непроизвольные шагательные движения. Эти же воздействия меняют паттерн произвольной ходьбы, увеличивая амплитуду движений.

Таким образом, мы показали, что у человека стимуляция афферентов, в частности, вибростимуляция мышц и сухожилий верхних и нижних конечностей, а также стимуляция опорной поверхности стоп меняет паттерн шагательных движений, вызываемых ЧССМ. Известно, что вибростимуляция нарушает паттерн произвольных движений, но характер изменений, связанных с вибрацией, зависит от места приложения воздействия и от фазы движения (Bove et al., 2001; Verschueren et al., 2002; Sorensen et al., 2002). Вибрация *m. rectus femoris*, той же мышцы, что и в нашем исследовании, во время произвольной ходьбы незначительно уменьшала амплитуду движений в фазу опоры и недостоверно уменьшала скорость движений (Verschueren et al., 2002). Мы показали, что вибростимуляция приводит к увеличению амплитуды непроизвольных движений, вызываемых стимуляцией спинного мозга с частотой 5 Гц. Вероятно, различия в результатах связаны с различиями в системах управления произвольной и непроизвольной локомоцией. Кроме того, недавно было показано, что вибрация по-разному действует на спинальные локомоторные сети в неподвижности и при движении (Selionov et al., 2009). У здоровых добровольцев исследовали величину подавления вибрацией Н-рефлекса в стационарных условиях: стоя, лежа на спине и лежа на боку с вывешенной ногой, - а также в динамических условиях: при непроизвольной локомоции, вызванной приложением вибрации к тем же мышцам, что и в стационарных условиях, и при произвольной, когда

испытуемые изображали ходьбу вывешенными ногами. Для понимания полученных нами результатов важно то, что, во-первых, максимальное подавление Н-рефлекса (максимальную активность а-мотонейронов) зарегистрировали при вывешенном положении ног, во-вторых, при вызванной локомоции активность а-мотонейронов была наибольшей, в-третьих, различия между произвольной и непроизвольной ходьбой выявлены именно в той фазе шага, которая соответствует фазе опоры.

Ранее мы доказали, что ЧССМ способна активировать моно- и полисинаптические нейронные сети и именно с активацией полисинаптических сетей мы связываем возникновение локомоторных движений при ЧССМ (Городничев и др., 2012). В классической работе Burke и Schiller (1976) показано, что вибрация приводит к активации не только моно-, но и полисинаптических рефлексов. ЧССМ в наших экспериментах проводили в области грудных позвонков T11 и T12, стимулируя L2-L4 сегменты спинного мозга, место, где локализованы спинальные локомоторные сети у человека (Dimitrijevic et al., 1998; Shapkova, Schomburg, 2000; Герасименко, 2002). Прикладывая вибрацию к m. rectus femoris, мы дополнительно воздействовали на нейронные сети этих же сегментов спинного мозга (Kendall et al., 1993). Следовательно, вибрация m. rectus femoris одновременно с ЧССМ активировала полисинаптические нейронные сети, с которыми связывают генерацию локомоторного паттерна.

Вибрация руки так же, как и вибрация ноги, увеличивает амплитуду и мощность непроизвольных движений, вызванных ЧССМ с частотой 5 Гц, (Рисунки 4.17А, 4.18). Связь между локомоторными центрами верхних и нижних конечностей очевидна, экспериментальные доказательства получены как на животных, так и на человеке (Шапкова, 1997; Ballion et al., 2001; и др.). Показано, что вовлечение в процесс реабилитации передних конечностей у крыс с гемисекцией спинного мозга (T10) способствует эффективному восстановлению локомоторной активности,

квадрипедальная локомоторная тренировка достоверно лучше восстанавливает двигательную активность, чем бипедальная тренировка (Shah et al., 2013). Авторы связывают результат с вовлечением в активность нисходящих проприоспинальных путей, способствующих реорганизации спинальных нейронных сетей. Вибрации мышц руки вызывает активацию нисходящей проприоспинальной системы. Ранее было показано, что интернейроны L7–S1 сегментов спинного мозга, имеющие входы от мышечных афферентов, по-разному активируются дорсолатеральной нисходящей системой и, как предположили авторы публикации, такая система связей обеспечивает координированную работу мышц-антагонистов во время локомоторного цикла (Daofen et al., 2001). Таким образом, вибрация мышц руки нормализует распределение активности между мышцами-антагонистами, и это приводит к тому, что паттерн движений, вызванных ЧССМ, приближается к паттерну произвольных движений ног (Рисунок 4.16Б, В).

В экспериментах с вибрацией было показано, что вибрация шеи нарушает паттерн произвольной ходьбы, в том числе уменьшает длину пройденного пути и уменьшает скорость ходьбы (Bove et al., 2001). То, что мы получили прямо противоположный результат, скорее всего связано с особенностями локомоции: произвольная и непроизвольная, ходьба по твердой поверхности и ходьба «в воздухе» выведенными ногами. Как сказано выше, в условиях вывески ног на здоровых добровольцах мы показали, что ЧССМ в области шейного утолщения спинного мозга приводит к увеличению амплитуды непроизвольных движений ног, вызванных ЧССМ в области поясничного утолщения.

В нашем исследовании эффект подключения вибростимуляции на характеристики непроизвольных движений ног, вызванных ЧССМ, хорошо проявляется при ЧССМ с частотой 5 Гц и практически отсутствует при ЧССМ с частотой 30 Гц. Ранее мы показали, об этом сказано выше, что ЧССМ с частотой диапазоне 5-40 Гц вызывает шагательные движения

у здоровых испытуемых, амплитуда вызванных движений увеличивается с частотой стимуляции в диапазоне от 5 до 30 Гц и не меняется в диапазоне от 30 до 40 Гц. Можно предположить, что при частоте ЧССМ 30 Гц в спинальных локомоторных сетях активированы все центры и связи, от которых зависит амплитуда движений, и дополнительные воздействия на эти структуры оказываются неэффективными.

Недавно было показано, что ритмическая СОПС вызывает тоническую или ритмическую ЭМГ активность, у добровольцев, находящихся в положении лежа на боку и компенсацией веса ног (Рисунок 4.1А), такая стимуляция вызывает непроизвольные шагательные движения (Томиловская и др., 2013). Методом фМРТ было показано, что ритмическая механическая стимуляция опорных зон стоп в ритме шагания активирует первичную соматосенсорную кору, премоторную и дорсолатеральную префронтальную кору, островковую долю (Кремнева и др., 2013). Следовательно, СОПС не только активирует спинальные локомоторные сети, вызывая тонические и ритмические ответы, но и соматосенсорную кору, так же, как и тренировка локомоторных движений в системе компенсации веса тела (Локомат) у пациентов с неполным перерывом спинного мозга (Winchester et al., 2005).

При вертикальном положении тела для некоторых испытуемых СОПС была эффективна для вызова локомоции, для других – ЧССМ. Но у всех испытуемых одновременное воздействие на аfferентные и на центральные входы было эффективно всегда и имело максимальный эффект. СОПС и ЧССМ меняли паттерн произвольных локомоторных движений, что демонстрирует сходимость аfferентной и супраспинальной регуляции на уровне спинальных локомоторных сетей.

Эти наблюдения согласуются с предположением о том, что проприоцептивные и кожные сенсорные входы могут быть основными источниками контроля движений даже при нарушенном супраспинальном входе. Аргументы в пользу этого предположения мы получили в результате

экспериментов на животных, изложенных в Главах 2 и 3. Теперь подтверждение этой гипотезе мы получили в экспериментах на здоровых добровольцах.

Глава 5. ЧРЕСКОЖНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ СПИННОГО МОЗГА В РЕАБИЛИТАЦИИ ПАЦИЕНТОВ С ДВИГАТЕЛЬНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

5.1. Комплексная реабилитация спинальных пациентов с участием фармакологического, электростимуляционного воздействия и механотерапии

Как неоднократно было сказано выше, постуральные и локомоторные функции регулируются специализированными нейронными сетями спинного мозга, которые, в свою очередь, находятся под контролем головного мозга. При нарушении супраспинальных связей вследствие травмы или заболевания спинного мозга эти нейронные сети становятся нефункциональными. Один из возможных способов двигательной нейрореабилитации таких пациентов заключается в активации этих нейронных сетей с помощью ЧССМ, активации афферентных входов (механостимуляцией) и/или фармакологическим воздействием (Edgerton et al., 2006). Ранее было показано, что у пациентов с полной утратой двигательных функций из-за травмы шейного отдела спинного мозга эпидуральная или чрескожная электрическая стимуляция поясничного утолщения спинного мозга в сочетании с локомоторными тренировками на протяжении ~7 месяцев приводит к восстановлению функции поддержки веса тела и появлению произвольных движений ног (Harkema et al., 2011; Angeli et al., 2014; Gerasimenko et al., 2015). В исследованиях на животных показано, что активация серотониновой системы играет ключевую роль в запуске локомоции и восстановлении функции поддержания позы. В экспериментах на крысах с полной перерезкой спинного мозга на уровне T11 мы показали, что сочетание локомоторных тренировок с введением агониста серотониновых рецепторов (квилизина) ведет к быстрому восстановлению двигательной активности и к нормализации структуры и связей нейронов поясничного утолщения. На аналогичной модели недавно было показано, что при фармакологической

и электрической стимуляции спинного мозга крысы были способны выполнять шагательные движения, не отличающиеся по своим кинематическим характеристикам от ходьбы нормальных животных, обеспечивая до 25% компенсации собственного веса (Musienko et al., 2011).

Цель последнего этапа работы – исследовать эффективность ЧССМ для нейрореабилитации пациентов с тяжелыми двигательными нарушениями, обусловленными травмой спинного мозга. Дополнительная задача – проверить эффективность активации серотониновых рецепторов в этих условиях. В качестве фармакологического агента выбран буспирон, неселективный агонист серотониновых рецепторов 5-HT_{1A} типа, использованный ранее для лечения двигательных нарушений (Leo, 1996). Поскольку буспирон является анксиолитиком, мы контролировали возможные проявления психотропного эффекта этого препарата.

5.1.1. Материалы и методы

В исследовании приняли участие 10 пациентов с параличами, вызванными заболеванием или травмой грудного отдела позвоночника с продолжительностью паралича больше года (Таблица 5.1). Исследования проведены на базе ФГБУ «СПБНИИФ». Цель, задачи и протокол исследований были одобрены научной проблемной комиссией этого учреждения. Пациенты были ознакомлены с содержанием исследований и возможными рисками и дали письменное согласие на участие в исследованиях.

ЧССМ проводили одновременно на двух уровнях, фиксируя электроды между остистыми отростками позвонков T₁₁-T₁₂ и L₁-L₂, частота стимуляции 30 Гц. Оборудование для ЧССМ и технические детали стимуляции те же, что были описаны выше. В начале каждого сеанса стимуляции определяли максимальную силу тока, которая не вызывала неприятных ощущений у пациента (обычно 30-120 мА).

Таблица 5.1.

Пациент	Пол	Возраст	Диагноз, уровень поражения позвоночника / спинного мозга	Шкала Frankel	Длительность парализации (лет)	Количество процедур	Препарат
Б1	м	29	Травма Th5-6, ушиб спинного мозга/D4	A	2	17	буспирон
Б2	м	29	Травма Th5-6/D4	A	2	17	буспирон
Б3	м	45	Травма Th12/L1	A	5	17	буспирон
Б4	м	66	Травма Th11/L1	C	6	16	буспирон
Б5	ж	38	Травма Th6-8/L1	D	5	16	буспирон
П1	м	36	Травма Th10-11/D10	A	4	17	плацебо
П2	ж	29	S-образный сколиоз/ятрогенная миелопатия с D5	A	16	17	плацебо
П3	м	33	Травма Th12/D11	A	1.5	17	плацебо
П4	м	43	Травма Th9-10, туберкулезный спондилит Th8-10/D5	D	3	17	плацебо
П5	ж	43	S-образный сколиоз/ятрогенная миелопатия с L2	D	3	16	плацебо

ЧССМ проходила на фоне механотерапии. Пациентов в положении сидя или полулежа размещали в тренажере Биокин (ООО Косима, Москва), задающем принудительные шагательные движения обеих ног с комфорtnой для пациентов частотой, около 0.5 Гц. Длительность комплексного воздействия 30 мин. Пациенты получали по 4-5 процедур в неделю, всего по 16-17 процедур в течение 4 недель.

Начиная с первой процедуры, пациенты ежедневно получали однократную дозу буспирона (buspiron sandoz®, Швейцария) или плацебо (янтарную кислоту) per os с небольшим количеством воды за 30 мин до начала сеанса ЧССМ. Режим приема буспирона: 3 дня по 5 мг, 7 дней по 10 мг, 18 дней по 15 мг. После завершения реабилитационных процедур дозу буспирона снижали в течение недели. В выходные дни пациенты принимали таблетки в стандартные часы проведения процедуры. Пациенты не были информированы о том, какой именно препарат они

принимали. В Таблице 5.1 пациенты, принимавшие буспирон зашифрованы буквой «Б», плацебо – «П».

Пациенты Б2 и Б5 годом раньше участвовали в аналогичном клиническом исследовании, получив такое же количество процедур (n=15) ЧССМ и механотерапии на тренажере Биокин без фармакологической поддержки.

Контроль неврологического статуса пациентов осуществляли по шкалам Frankel, ASIA, Ashworth и по функциональной 100-балльной шкале оценки силы мышц ног по шкале MRC (Medical Research Council). Активность коленных, ахилловых и анального рефлексов оценивали по 5-балльной шкале (Цыкунов и др., 2010). Реабилитационный статус оценивали по индексу мобильности Ривермид. Оценку неврологического статуса проводили до начала, после 9 процедур, сразу по окончании курса и через неделю после него (1-ое, 2-ое, 3-е и 4-ое тестирование, соответственно).

Для исследования психотропного эффекта препаратов использовали Монреальскую шкалу когнитивной оценки, опросник Спилбергера-Ханина для определения ситуационной и личностной тревожности и шкалу-опросник субъективной частоты симптомов депрессии CES-D (Center for Epidemiological Studies-Depression). Пациентов тестировали перед началом и в последний день курса буспирона/плацебо, за 1 час до приема препарата. Регистрировали также нежелательные явления, связанные с психотропным действием буспирона и описанные с частотой проявления ≥1%: головокружение, шум в ушах, сонливость, головная боль, усталость, нарушение сна, понижение способности к концентрации внимания и др. Учет этих симптомов проводили еженедельно по системе суммирования баллов с присвоением каждому эффекту 1 балла.

Статистический анализ результатов проводили по непараметрическому критерию Манна-Уитни. Различия между показателями считались статистически значимыми при $p < 0.05$. Влияние буспирона анализировали с применением двухфакторного метода ANOVA

(факторы «буспирон» и «время») для повторных измерений. Для статистической обработки использовали пакет GraphPad Prism 6.00 (GraphPad Software, La Jolla, California, USA).

5.1.2. Результаты и обсуждение

В каждую группу вошли 3 пациента с полной и 2 с неполной пlegией; индекс мобильности Ривермид составил в среднем 7 баллов, в том числе 6.4 балла для группы «буспирон» и 7.4 баллов для группы «плацебо». Группы были выравнены по полу, возрасту, тяжести поражения спинного мозга, по этиологии заболевания (Таблица 5.1). В начале исследования сила мышц, тактильная и болевая чувствительности по шкале ASIA, были в диапазоне 0-44, 44-106 и 44-106 в группе «буспирон», соответственно, и 0-41, 52-104 и 52-104 в группе «плацебо», соответственно. У пациентов Б2 и Б3, которые сначала были не способны произвольно инициировать движения и активировать мышцы ног, в конце исследования появились видимые сокращения мышц и движения (1-2 балла по ASIA).

Во время последующих тестирований, которые проводили во время и после окончания стимуляции, у всех 10 пациентов выявлены изменения измеряемых неврологических характеристик разной степени, в том числе клинически значимые позитивные изменения – у четверых. Прирост показателей, как правило, регистрировали уже после первых 9 процедур, а максимальные изменения наблюдали в разные сроки. Прирост силы мышц ног хотя бы по одной из шкал выявлен у 8 пациентов из 10, снижения силы не наблюдали. По шкале ASIA прирост силы составил от 1 (4 случая) до 5 баллов. По шкале MRC прирост происходил в диапазоне от 1 до 11 баллов. Прирост болевой и тактильной чувствительности (ASIA) наблюдали у 9 из 10 пациентов, диапазон изменений болевой чувствительности от 1 до 10 баллов, тактильной – также от 1 до 10 баллов. Благоприятное изменение тонуса мышц в виде его повышения при

исходном гипотонусе наблюдали у пациентов Б2 и Б5. Негативные изменения в виде нарастания гипертонуса мышц на 0.5 балла по Ashworth наблюдали в одном случае (пациент Б3); факт был выявлен через неделю после окончания курса и связан, вероятно, со снижением двигательной нагрузки. Изменения коленных и Ахилловых рефлексов разной направленности (повышение и понижение) в ходе курса наблюдали у 7 пациентов. У пациента Б4 отмечено исчезновение выявленных при первичном тестировании нестабильных низкоамплитудных коленных и Ахилловых рефлексов. У пациента Б2 отмечено появление исходно отсутствовавшего анального рефлекса.

Таким образом, по данным клинического обследования, 4-недельный курс реабилитации хронически парализованных пациентов с длительностью паралича больше года, состоящий в ЧССМ в сочетании с механотерапией, вызвал положительную динамику показателей, характеризующих двигательную активность и чувствительность.

В группе пациентов, принимавших буспирон, изменения всех регистрируемых показателей количественно и качественно был более значимый, чем в группе принимавших плацебо. Во-первых, изменения тонуса мышц наблюдали только в группе «буспирон» (см. выше). Во-вторых, чувствительными к буспирону оказались такие анализируемые показатели, как мышечная сила, болевая и тактильная чувствительность (Рисунок 5.1). Через 9 процедур от начала курса (2-е тестирование) прирост всех анализируемых показателей в группе «буспирон» был больше, чем в группе «плацебо». К окончанию курса (3-е тестирование) в группе «буспирон» наблюдался больший прирост по показателю болевой чувствительности и по показателю силы, зарегистрированному по шкале MRC. Через неделю после окончания курса (4-е тестирование) показатели силы, зарегистрированные по шкале MRC, продолжали увеличиваться в обеих группах с более выраженным приростом в группе «буспирон», чем в группе «плацебо». Болевая и тактильная чувствительность в группе

«плацебо» снижались до уровня, зарегистрированного перед началом курса, а в группе «буспирон» продолжали нарастать ($p<0.05$). Разница между результатами прироста мышечной силы, зарегистрированными методами MRC и ASIA, связана с тем, что двигательные функции нижних конечностей по ASIA оцениваются проверкой силы 5 контрольных групп мышц, а по MRC – 10 групп мышц, и, следовательно, шкала MRC является более подробной, чем шкала ASIA для анализа мышечной силы. Результаты исследования показали, что прием агониста серотониновых рецепторов буспирона на фоне механотерапии и ЧССМ ведет к увеличению мышечной силы, тактильной и болевой чувствительности.

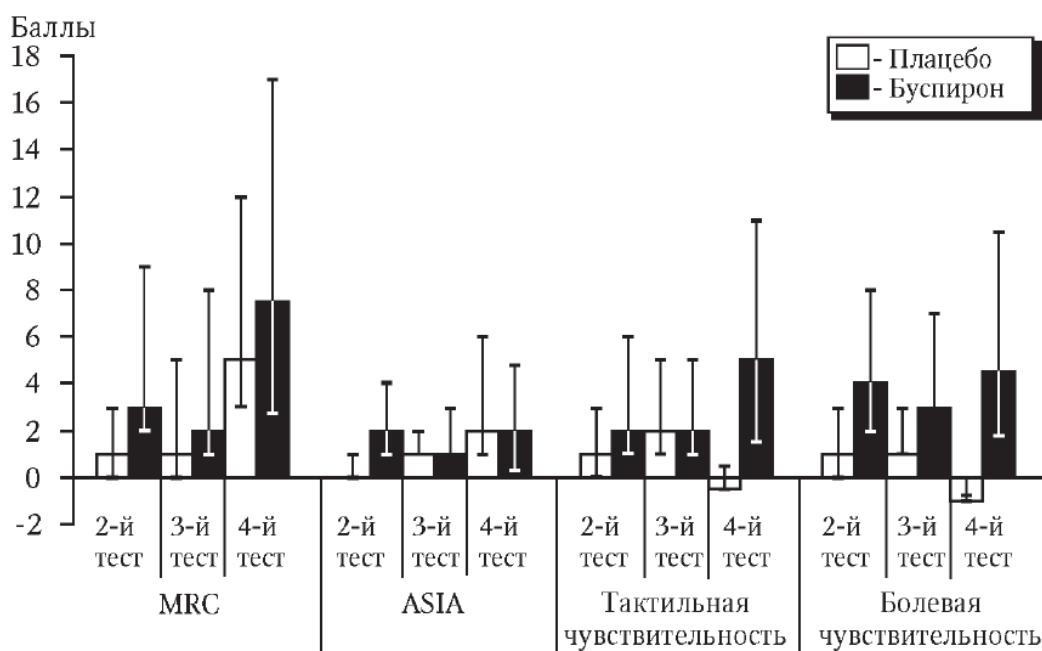


Рис. 5.1. Динамика изменения силы (MRC, ASIA), тактильной и болевой чувствительности при реабилитации с применением препарата буспирон и без него. Данные представлены медианой разницей между результатами тестирования во время 2-ого, 3-его и 4-ого тестирования и соответствующими показателями, зарегистрированными при 1-ом тестировании. Планки погрешностей: интерквартильный размах 25 – 75. n=5 в каждой группе. Цит. по (Мошонкина и др., 2016).

Двое из пациентов группы «буспирон», Б2 и Б5, в 2013 г. получали реабилитацию по сходному протоколу: ЧССМ на тех же уровнях с одновременной механотерапией на аппарате Биокин, с той же длительностью сеанса и сопоставимым количеством процедур (n=15).

Сравнительные данные по основным контролируемым параметрам для каждого пациента представлены на Рисунке 5.2.

У пациента Б2 с полной плегией после курса без буспирона появился прежде отсутствовавший коленный рефлекс слева (Рисунок 5.2). После курса с буспироном (2014 г.) были зарегистрированы приrostы коленного рефлекса справа и слева, сухожильного рефлекса справа, появился анальный рефлекс, зарегистрировано улучшение болевой чувствительности (на 9%). У этого пациента курс механостимуляции и ЧССМ вызвал минимальную положительную динамику, а через год такой же курс с буспироном сопровождался улучшением практически по всем анализируемым показателям.

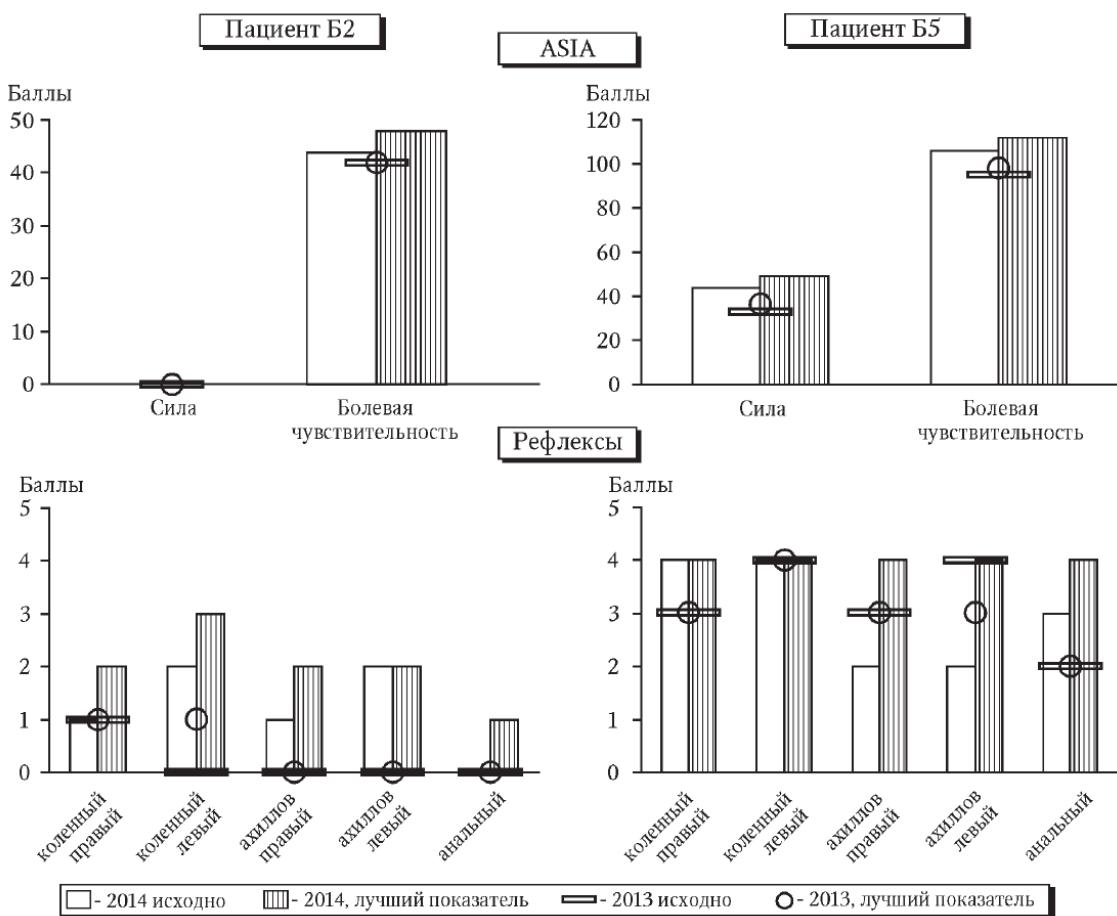


Рис. 5.2. Динамика основных неврологических характеристик при реабилитации с применением препарата буспирон и без него у двух пациентов (см. табл. 5.1) на основании ретроспективного исследования. Результаты 2013 года: ЧССМ в сочетании с роботизированной механотерапией. Результаты 2014 года: ЧССМ в сочетании с роботизированной механотерапией на фоне ежедневного приема буспирона. По вертикальной оси: баллы. Цит. по (Мошонкина и др., 2016).

У пациентки Б5 оба курса сопровождались умеренной положительной динамикой с приростом силы мышц и чувствительности в баллах ASIA: 9% и 11% по двигательным параметрам и 3% и 5% по болевой чувствительности в 2013 и 2014 гг., соответственно (Рисунок 5.2). После курса без буспирона зарегистрирован прирост сухожильного рефлекса слева, после курса с буспироном – прирост сухожильных рефлексов с обеих сторон и прирост анального рефлекса.

Итак, результаты проспективных и ретроспективных исследований показывают, что прием буспирона (активация серотониновых рецепторов) усиливает позитивное влияние ЧССМ на неврологический статус пациентов с тяжелыми двигательными нарушениями. В 2015 году опубликованы данные, показавшие, что применение ЧССМ в сочетании с буспироном на протяжении 18 недель у спинальных пациентов с полной утратой двигательных функций приводит к восстановлению произвольных движений ног в условии внешней вывески ног, как в наших исследованиях на здоровых добровольцах (Рисунок 4.1) (Gerasimenko et al., 2015). Пациенты могли самостоятельно сгибать ноги в голеностопном, коленном суставах, контролировать эти движения, меняя угол в суставе. Этот результат, с одной стороны, подтверждает полученные нами данные, показывая, что ЧССМ в сочетании с афферентной стимуляцией и со стимуляцией серотонинергической системы ведет к «нормализации» локомоторных функций (изменения в сторону нормы), с другой стороны, демонстрирует, что четырех недель такого воздействия недостаточно для восстановления произвольных движений у парализованных пациентов. Хотя и после четырехнедельной реабилитации у двух из пяти пациентов, принимавших буспирон (Б2 и Б3), не способных сначала произвольно инициировать движения и активировать мышцы ног, в конце исследования появились видимые сокращения мышц и движения (1-2 балла по ASIA).

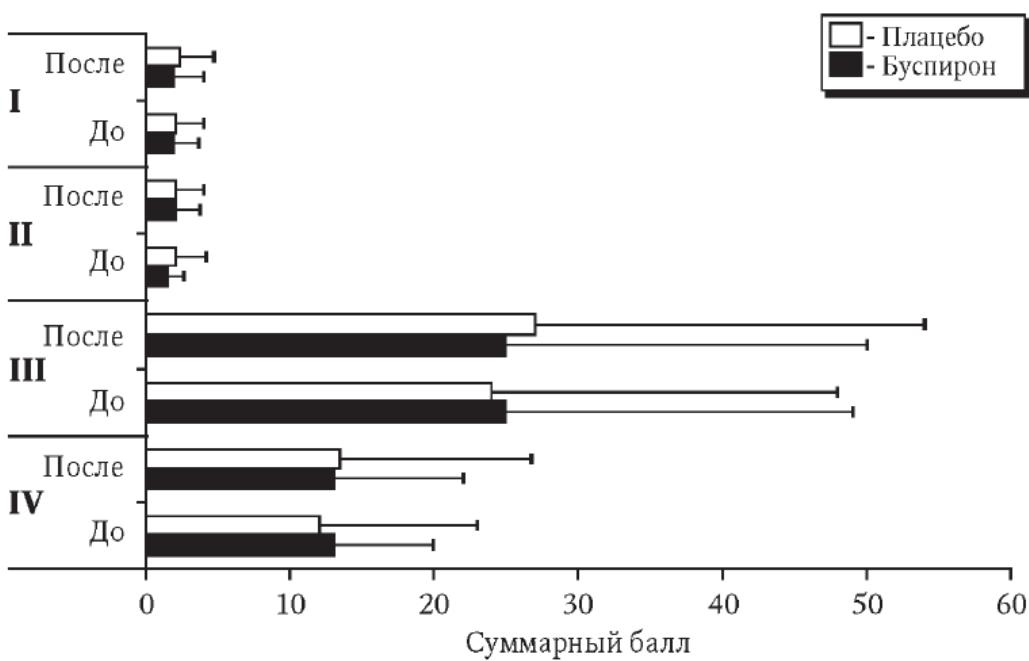


Рис. 5.3. Показатели психологического тестирования до начала (До) и после курса (После) ЧССМ в сочетании с буспироном или плацебо. По оси показан суммарный балл шкалы субъективной частоты симптомов депрессии, Монреальской шкалы когнитивной оценки, опросника Спилбергера по ситуационной и личностной тревожности. Данные представлены как медиана + 25 процентиль; n=5 в каждой группе. Цит. по (Мошонкина и др., 2016).

Клиническое назначение буспирона – антидепрессант. Применяя его с иной целью, мы контролировали возможные проявления психотропного эффекта препарата. Изменение исходных показателей психологических тестов к последнему приему буспирона/плацебо отражено на Рисунке 5.3. До начала курса процедур пациенты из группы «плацебо» статистически значимо не отличались от пациентов из группы «буспирон» по показателям субъективной частоты симптомов депрессии, когнитивным показателям, ситуационной и личностной тревожности. Буспирон не оказывал статистически значимого влияния на уровень субъективной оценки симптомов депрессии ($F(1, 15) = 0.044$; $p=0.836$), когнитивные показатели ($F(1, 15) = 0.169$; $p=0.687$) и степень ситуационной ($F(1, 15) = 1.417$; $p=0.252$) и личностной ($F(1, 15) = 0.0004$; $p=0.984$) тревожности пациентов. Незначительные нежелательные явления в виде головокружения, шума в ушах, головных болей и нарушения засыпания отмечены у 2 человек из группы «буспирон», и у 3 человек из группы «плацебо». Величина

суммарного балла этих симптомов не отличалась статистически значимо в группах, получавших плацебо и буспирон ($p=0.92$, $n=5$, критерий Манна-Уитни). Как психотропное средство, буспирон применяется в средней суточной дозе 20-30 мг (Srámek et al., 1999; Loane, Politis, 2012). В нашем исследовании максимальная доза буспирона была меньше, это позволило избежать психотропного действия и использовать препарат только как средство для усиления эффекта ЧССМ и механотерапии.

Исследование показало, что неинвазивная электрическая стимуляция спинного мозга в сочетании с механотерапией влияет на неврологические показатели пациентов с хроническими полными и неполными нижними параплегиями вертеброгенной природы, то есть может перенастраивать спинальные локомоторные сети человека в отсутствии нормальных супраспинальных влияний. Активация серотониновых рецепторов усиливает эффект стимуляции спинного мозга и, с точки зрения трансляции результатов физиологических исследований в практическую медицину, может рассматриваться как дополнительный ресурс нейрореабилитации. Перспективным представляется возможность использования этих методов для восстановления утраченной самостоятельной двигательной активности у людей с травмой или заболеванием спинного мозга, лишенных этих движений. Наши данные показывают, что даже краткосрочное направленное воздействие на спинной мозг и афферентную систему вызывают изменения, ведущие к «нормализации» двигательных функций, а непрерывное воздействие в течение нескольких месяцев приводит к восстановлению произвольных элементарных движений (Gerasimenko et al., 2015). Эти выводы тем более актуальны сейчас, когда накопились результаты многочисленных исследований с применением методов нейровизуализации, которые позволяют с уверенностью утверждать, что даже у людей с многолетней полной травмой спинного мозга головной мозг все еще способен

надлежащим образом активировать и контролировать функциональные программы в первичной и вторичной моторных зонах коры (Kokotilo et al., 2009).

5.2. Регуляция двигательных функций у пациентов с детским церебральным параличом с помощью неинвазивной стимуляции спинного мозга

Приведенные выше результаты были получены на пациентах с травмой спинного мозга, то есть в случае, когда нарушение двигательных функций произошло после того, как эти функции были нормально развиты, спинальные нейронные сети были естественным образом сформированы, а из-за травмы произошел перерыв или нарушение супраспинальных связей и функции были утрачены.

Детский церебральный паралич (ДЦП) относится к числу распространенных заболеваний, приводящих к существенному нарушению двигательных функций (Damiano et al., 2001; и т.д.). Для детей с ДЦП характерна аномально высокая спастичность мышц в пораженных конечностях, что приводит к нарушению моторного развития (Engsberg et al., 2000). Нарушенный мышечный контроль обуславливает коактивацию мышц агонистов и антагонистов (Stackhouse et al., 2005). Клинико-морфологические исследования подтверждают значительные патологические изменения во всех звеньях двигательных центров мозга: в коре, подкорковых образованиях, в области двигательных ядер черепно-мозговых нервов, в начальных сегментах спинного мозга (Левченкова, Семенова, 2012). Такие нарушения в высших отделах центральной нервной системы оказывают влияние на спинной мозг. Применение fMRI для оценки состояния спинного мозга у пациентов со спастической диплегией выявило, что площадь белого вещества спинного мозга на поперечных срезах на уровне C6/C7 и T10/T11 сегментов достоверно меньше, чем у их normally развивающихся сверстников, а площадь серого вещества на

уровне С6/С7 и Т10/Т11 достоверно не отличалась у пациентов с ДЦП и у их здоровых сверстников (Noble, 2014). Исследование на “животной” модели ДЦП показало, что площадь мотонейронов и количество синаптических контактов в центральном роге спинного мозга незначительно меньше у крыс с ДЦП, чем у нормальных животных, и может достигать нормальных значений при развитии крыс с ДЦП в environmental enrichment условиях (Marques et al., 2014). Можно предположить, что в дистальном отделе спинного мозга пациентов с ДЦП, в том отделе, который у спинальных пациентов стимулируют для восстановления локомоторных функций, присутствует нормальное или близкое к нормальному количество мотонейронов и интернейронов, а нарушение двигательных функций связано, главным образом, с дефицитом супраспинальных связей. Так как этот дефицит существует на протяжении всей жизни больного, можно предположить, что вследствие компенсаторных процессов у пациента с ДЦП локомоторные сети сформированы не так, как в норме. Регистрация единичных мотонейронов методом игольчатой миографии у пациентов с ДЦП выявила прямую корреляцию степени дисбаланса тормозно-возбудительных связей мотонейронов с тяжестью двигательных нарушений (Condliffe et al., 2016).

На следующем этапе исследования, применяя метод ЧССМ на пациентах детского возраста с ДЦП, мы исследовали может ли активация локомоторных нейронных сетей с помощью электростимуляции не только восстанавливать локомоторные функции, утраченные из-за нарушения связей нормально функционировавших сетей с вышележащими отделами двигательной системы, но и корректировать работу ненормально развивающихся спинальных локомоторных сетей, способствовать «нормализации» функций. Кроме того, мы исследовали эффективность использования ЧССМ для реабилитации двигательных функций у пациентов с ДЦП.

5.2.1. Материалы и методы

В исследовании приняли участие 28 детей в возрасте от 6 до 13 лет (средний возраст $9,4 \pm 1,9$) с диагнозом ДЦП, спастическая диплегия (таблица 5.2). Для сравнения результатов исследований, которые мы получили на пациентах, с нормальными показателями, были проведены однократные тестирования на 10 normally развивающихся детях того же возрастного диапазона (средний возраст $8,7 \pm 2,0$).

Таблица 5.2.

Основная группа				Контрольная группа							
Пациент/ пол	GMFCS	Возраст (лет)	Ashwort	GMFM-88		Пациент/ пол	GMFCS	Возраст (лет)	Ashwort	GMFM-88	
				до	после					до	после
Оsn1/м	II	7	1	245	245	K1/ж	II	10	1	210	212
Оsn2/м	II	9	2	230	245	K2/ж	II	7	1	137	139
Оsn3/ж	II	6	1	201	205	K3/м	III	10	3	234	238
Оsn4/ж	III	7	1+	210	220	K4/ж	III	9	1	191	194
Оsn5/м	III	8	1	198	210	K5/ж	III	13	2	169	174
Оsn6/ж	III	9	1+	190	191	K6/м	III	9	1	157	157
Оsn7/ж	III	10	2	162	164	K7/м	III	12	2	153	153
Оsn8/м	III	8	2	146	148	K8/м	III	7	1+	141	141
Оsn9/ж	III	11	1	145	148	K9/ж	III	10	1	122	122
Оsn10/ж	III	10	1+	144	190	K10/м	III	10	1	110	110
Оsn11/ж	III	11	2	109	112	K11/ж	III	8	2	106	106
Оsn12/м	IV	10	2	43	47	K12/м	III	10	3	83	83
Оsn13/м	IV	11	3	34	37	K13/м	III	10	2	42	42
						K14/м	III	11	1	146	146
						K15/м	IV	11	2	90	92
Среднее ± станд.откл.	3 ± 0.6	9 ± 1.7		158 ± 65.5	$166 \pm 67.3^*$			3 ± 0.5	10 ± 1.7	139 ± 50.3	$140 \pm 51.3^*$

Исследования были проведены на базе ФГБУ НИДОИ им. Г.И. Турина. Цель, задачи и протокол исследований были одобрены Ученым советом этого учреждения. Родители пациентов дали письменное согласие на участие их детей в исследованиях. Антропометрические характеристики детей приведены в таблице 5.2. Всем пациентам с ДЦП

ранее было проведено хирургическое лечение, направленное на устранение спастичности мышц и контрактур нижних конечностей. В исследование были включены пациенты, в основном, с III уровнем тяжести клинических проявлений церебрального паралича по классификации GMFCS (Gross Motor Function Classification System for Cerebral Palsy (Palisano et al., 1997)). Пациенты имели нарушенный контроль вертикальной позы, но были способны самостоятельно удерживать вертикальную стойку до 2 мин. Степень нарушения интеллектуального развития оценивалась как легкая или средняя, все дети были контактны и могли четко выполнять задания экспериментатора. Критериями исключения были тяжелые контрактуры нижних конечностей, переломы, остеопороз, тромбоэмбolicкие заболевания, нестабильность сердечно-сосудистой системы, грубые нарушения интеллектуального развития.

Все пациенты были распределены на две группы. Основная группа состояла из 13 детей, которые прошли курс реабилитации из 15 процедур с применением ЧССМ. Во время процедуры пациентов помещали в систему ортезов и систему поддержки веса тела аппарата Локомат (Носома, Швеция). Пациентам сначала проводили стимуляцию спинного мозга на уровне позвонка L1 в течение первых 5 мин в вертикальной стойке, во время стимуляции просили стоять ровно, выпрямить спину, разогнуть колени, вытянуться. Поддержку веса тела в системе Локомат подбирали индивидуально так, чтобы пациенты стояли на опоре, не падая. Далее следовал двигательный тренинг в течение 40 мин. Скорость дорожки также подбирали индивидуально, она составляла около 1 км/ч. Для обучения пациентов правильному паттерну ходьбы и для их мотивации применяли систему зрительной биологической обратной связи, являющейся частью комплекса Локомат. В первые 10 мин локомоторной тренировки проводилась ЧССМ на уровне позвонка T11, а следующие 10 мин – синхронно стимулировали на двух уровнях (позвонки T11 и L1), потом ходьба продолжалась без стимуляции. Контрольную группу составили

15 пациентов, сопоставимые по возрасту и основным клиническим проявлениям с детьми основной группы (Таблица 5.2), которым ЧССМ не проводилась. Эти пациенты получали только курс двигательной реабилитации в роботизированном комплексе “Локомат”, состоящий из 15 процедур, длительностью по 40 мин.

Для ЧССМ были использованы электроды диаметром 2.5 см (Syrtent®) - катоды, - которые располагали наожно над позвоночником, над средней линией, между остистыми отростками позвонков. Два анода, - прямоугольных электрода большой площади ($5.0 \times 8 \text{ см}^2$, Syrentent®), - размещали накожно симметрично над гребнями подвздошных костей. Технические детали стимуляции те же, что и в предыдущем разделе. Частота стимуляции 30 Гц. Интенсивность стимуляции подбирали индивидуально так, чтобы ток вызывал видимое сокращение мышц нижних конечностей, но не вызывал неприятных ощущений у ребенка.

Тестирование проводили дважды у всех пациентов: в начале и в конце реабилитационного курса в комплексе Локомат. Степень спasticности мышц нижних конечностей оценивали с использованием модифицированная шкала спастичности Ashworth (Modified Ashworth Scale of Muscle Spasticity) (Bohannon, Smith, 1987). Оценку уровня моторных функций проводили с использованием шкалы GMFM-88 (Gross Motor Function Measure) (Russell et al., 1989), уровень развития двигательных навыков - с использованием шкалы больших моторных функций GMFCS. Восемь пациентов основной группы дополнительно были обследованы через 2-6 месяцев после окончания курса реабилитации для оценки отдаленных результатов лечения.

Изометрическое измерение мышечной силы в сгибателях/разгибателях бедра, сгибателях/разгибателях голени на правой и левой нижней конечности определяли при помощи теста L-FORCE, входящего в программное обеспечение тренажера Локомат. Для этого система разгрузки веса тела приподнимала пациента над беговой дорожкой, и при

помощи ортезов пассивно сгибала исследуемую ногу на 30° в тазобедренном суставе (для измерения момента силы в сгибателях/разгибателях бедра) и на 45° в коленном суставе (для измерения момента силы в сгибателях/разгибателях колена). Перед измерениями пациента просили расслабиться на сколько это возможно. По команде исследователя пациента просили приложить максимальное усилие (обычно несколько секунд) при сгибании или разгибании в соответствующем суставе. На каждое движение в каждом суставе было зарегистрировано по одной попытке.

Активный объем движений при сгибании или разгибании коленного и тазобедренного суставов измеряли при помощи теста L-ROM, входящего в программное обеспечение тренажера Локомат. Для этого система разгрузки веса тела приподнимала пациента над беговой дорожкой. Пациента просили расслабиться. Пациент активно совершал максимальное сгибание или разгибание от эквивалентного положения конечности поочередно в коленном и тазобедренном суставе каждой ноги.

Электрическую активность мышц регистрировали телеметрически, с помощью системы Мега (MEGA, Финляндия). На обеих ногах регистрировали ЭМГ активность m. rectus fem. (RF), m. biceps femoris (BF), m. gastrocnemius med. (MG) и m. tibialis ant. (TA) с помощью накожных электродов (H124SG Covidien). Оценку активности мышц проводили при совершении обследуемыми самостоятельных шагательных движений в воздухе (при 100% компенсации веса тела в системе Локомат) и при совершении шагательных движений по движущейся ленте тредбана с максимально возможной скоростью для каждого испытуемого без компенсации веса тела с поддержкой за поручни при необходимости (скорость ленты была подобрана таким образом, чтобы пациент при ходьбе “не терял” дорожку). Анализ ЭМГ сигнала был направлен на определение индекса ко-активации (ИК) агонистов и антагонистов (RF/Bf, TA/GL), для расчёта ИК использовали стандартный метод (Unnithan et al., 1996).

5.2.2. Результаты и обсуждение

Клинические шкалы и стандартные тесты Локомата

В начале исследований между основной и контрольными группами не было выявлено различий по анализируемым величинам (Таблица 5.2).

После реабилитационного курса у 12 из 13 пациентов основной группы зарегистрировано увеличение баллов по шкале GMFM-88, в контрольной группе увеличение баллов отмечено у 6 из 15 пациентов (Рисунок 5.4).

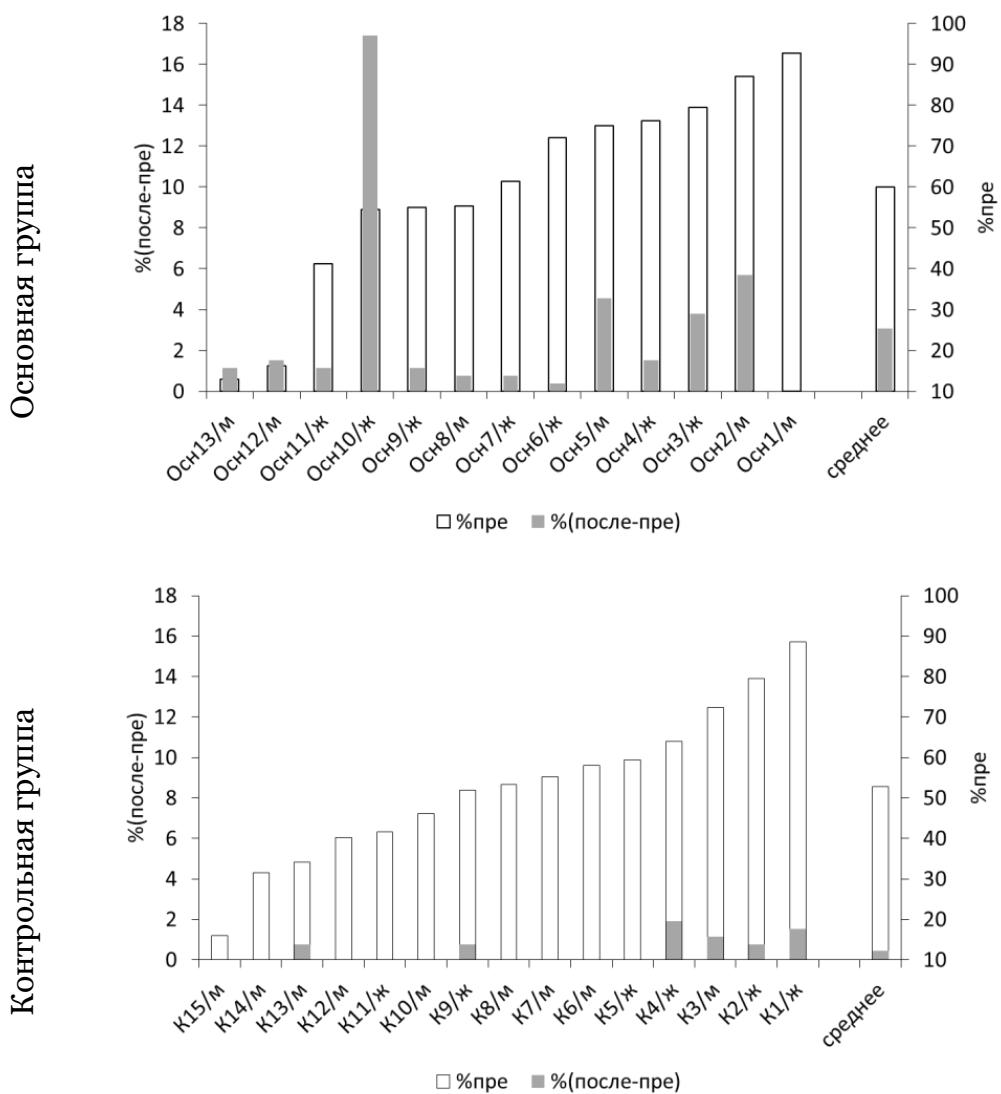


Рис. 5.4. Уровень моторных функций по шкале GMFM-88 (относительные значения) у пациентов основной и контрольной групп до курса (% пре) и прирост моторных функций после курса (%(после-пре)). Шифры пациентов соответствуют табл. 5.2. Цит. по (Solopova et al., 2017).

После воздействия в обеих группах зарегистрировано достоверное увеличение баллов GMFM-88 ($p=0.035$ и $p=0.016$ в основной и в контрольной группе, соответственно), однако, в основной группе это увеличение достоверно больше ($p=0.034$) (Таблица 5.2, Рисунок 5.4).

Поскольку все пациенты были с диагнозом диплегия, мы анализировали данные обеих ног совместно. По результатам теста L-FORCE, как в основной, так и в контрольной группе, максимальный момент силы при произвольном сгибании и разгибании бедра и колена были достоверно меньше, чем у здоровых сверстников (Рисунок 5.5), до начала исследований эти параметры не отличались между группами. После воздействий момент силы при сгибании и разгибании бедра не изменился ни в одной из групп. В основной группе после курса достоверно увеличилась максимальный момент силы сгибателей и разгибателей голени ($p<0.01$ и $p<0.05$, соответственно). В контрольной группе зарегистрировано достоверное уменьшение момента силы сгибателей и разгибателей колена ($p<0.05$ и $p<0.05$, соответственно) (Рисунок 5.5). Амплитуды движений в коленном и тазобедренном суставах, определенные с помощью теста L-ROM, не отличались между группами и были достоверно меньше, чем у здоровых сверстников (Рисунок 5.5). После воздействия зарегистрировано достоверное увеличение амплитуды движений в тазобедренном и коленном суставах в основной группе и в тазобедренном суставе – в контрольной группе.

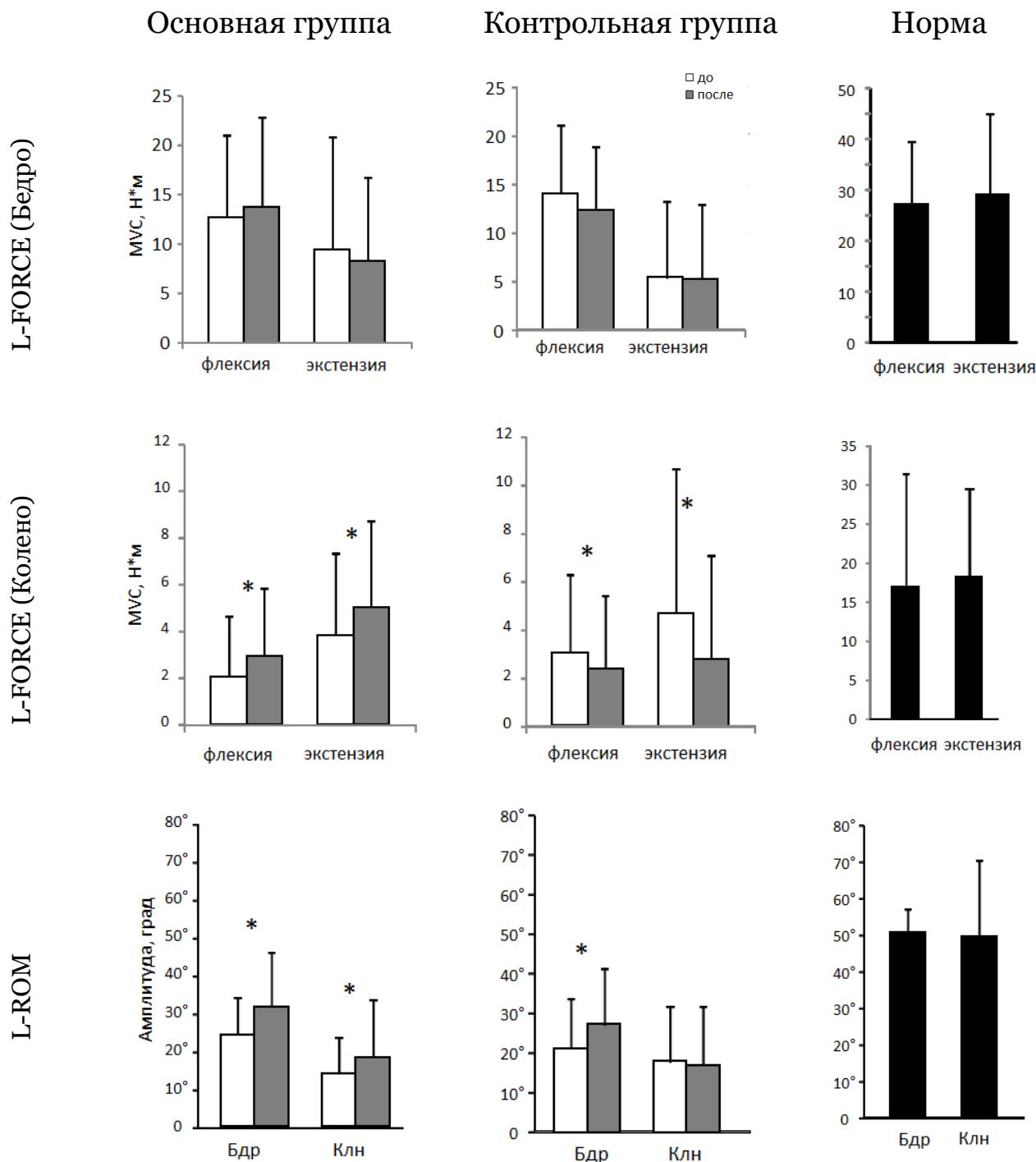


Рис. 5.5. Результаты тестирования пациентов до и после курса, а также здоровых детей, с использованием стандартных тестов Локомата. Два верхних ряда: максимальный моментышечной силы, развиваемый при сгибании/разгибании бедра и колена при произвольном движении. Нижний ряд: активный объем движений при сгибании/разгибании коленного и тазобедренного суставов измеряли при помощи теста L-ROM. MVC: maximal voluntary contraction. Звездочки указывают на достоверные различия. Цит. по (Solopova et al., 2017).

Степень ко-активации мышц

Патологическую ко-активацию мышц – одновременное сокращение агонистов и антагонистов на противоположных сторонах суставов – наблюдали у всех детей основной и контрольной групп, после курса реабилитации у детей основной группы коактивация заметно уменьшилась (Рисунок 5.6А).

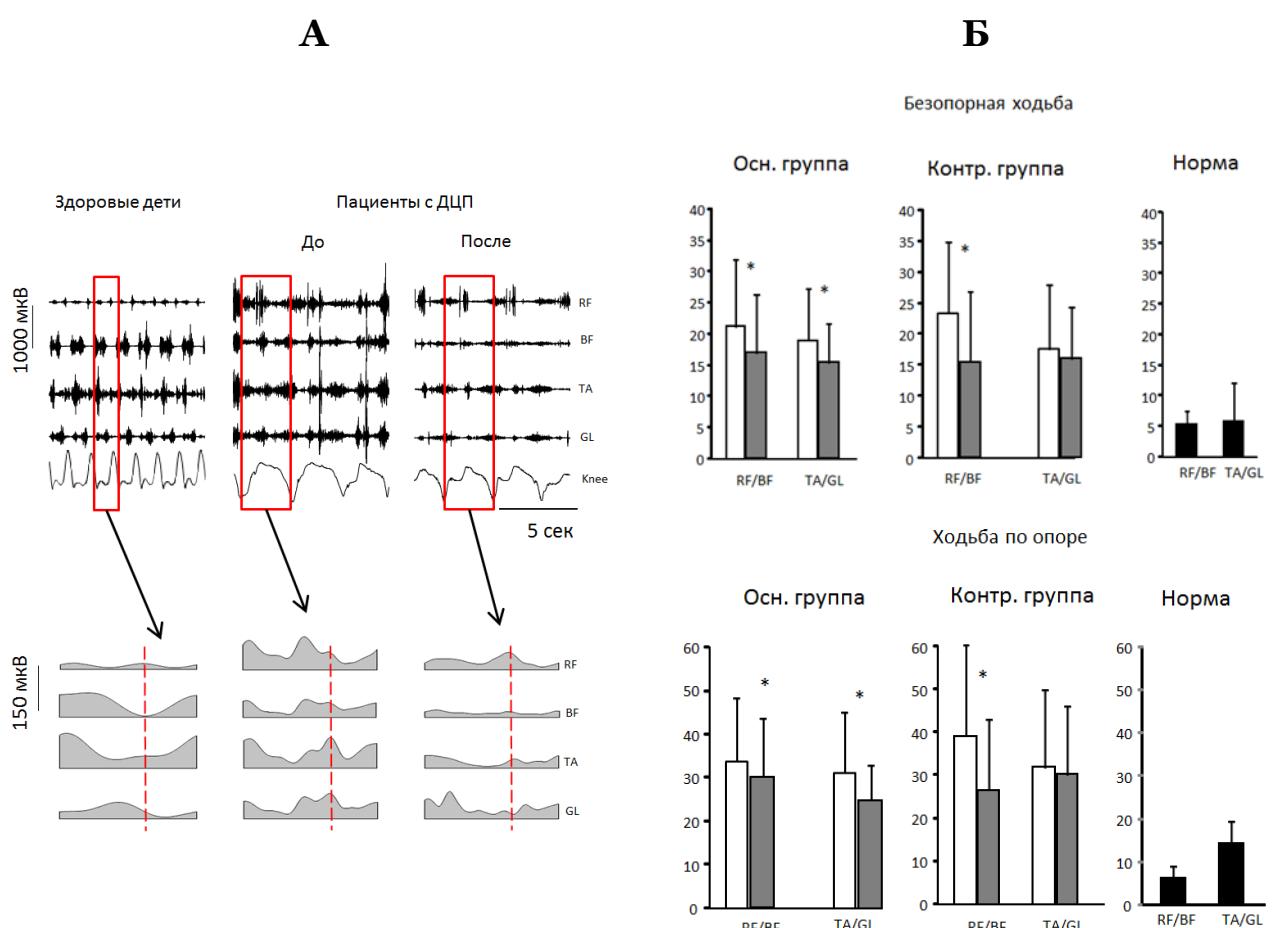


Рис. 5.6. А. Пример ЭМГ активности и изменения угла в коленном суставе здорового ребенка и пациента их основной группы до и после курса ЧССМ. Ниже приведены усредненные за один шагательный цикл паттерны ЭМГ активности. Вертикальная пунктирная линия показывает на коактивацию мышц антагонистов у детей с ДЦП и отсутствие этой коактивации у здоровых детей. Б. Изменение индекса коактивации (вертикальная ось, %) у пациентов с ДЦП до и после курса реабилитации, справа для сравнения приведены гистограммы с усредненными индексами коактивации в группе здоровых детей. Звездочки указывают на достоверные отличия. Остальные обозначения как на рис. 5.5. Цит. по (Solopova et al., 2017).

У детей с ДЦП регистрировали значения индекса ко-активации значительно превышающие значения этого показателя у здоровых детей как при «ходьбе в воздухе», так и при ходьбе по бегущей дорожке (Рисунок 5.6Б). И для здоровых детей и для детей с ДЦП эта ко-активация как для проксимальных, как и для дистальных мышц была существенно больше при ходьбе по тредбану, чем при ходьбе в воздухе ($p<0.01$ для каждого сравнения). В начале исследования не было значимых различий в ко-активации как дистальных, так и проксимальных мышц между основной и контрольной группой для каждого их типов ходьбы, соответственно. При безопорной ходьбе после реабилитации мы нашли значимое снижение индекса ко-активации в мышцах бедра ($p<0.03$) и голени ($p<0.03$) в основной группе, в то время как в контрольной группе наблюдалось существенное снижение индекса только в мышцах бедра ($p<0.01$) (Рисунок 5.6Б). Сходные изменения наблюдались и при ходьбе по опоре: значимое снижение индекса ко-активации в мышцах бедра ($p<0.04$) и голени ($p<0.01$) в основной группе, в то время как контрольной группе наблюдалось существенное снижение индекса только в мышцах бедра ($p<0.01$) (Рисунок 5.6Б). Таким образом, ЧССМ оказывала уменьшала ко-активацию не только в проксимальных, но и в дистальных мышцах ног.

Отдаленные результаты ЧССМ

Десять пациентов основной группы повторно были обследованы с использованием шкалы GMFM-88 через 2-6 месяцев после окончания реабилитационного курса ЧССМ (Рисунок 5.7). У пациента Осн1 (Таблица 5.2), у которого отсутствовал прирост по шкале GMFM-88 после курса лечения, изменений по сравнению с оценками, полученными на старте курса также не произошло. У пациентов Осн7 и Осн8 через 2 и 4.5 месяцев после окончания курса, соответственно, оценки по этой шкале вернулись к начальным значениям. У остальных обследованных пациентов величина баллов по шкале GMFM-88 осталась на уровне,

зарегистрированном сразу после окончания курса или уменьшилась <1% шкалы GMFM-88 по сравнению с этим тестированием.

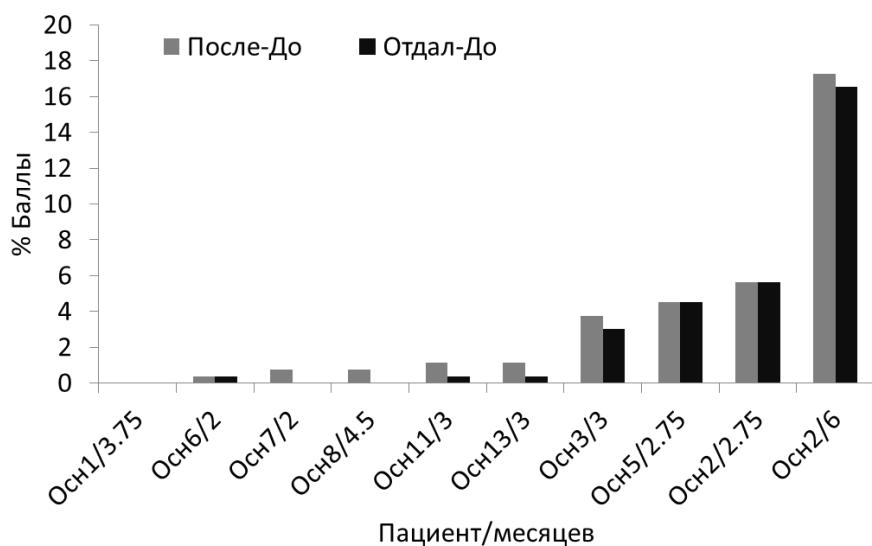


Рис. 5.7. Отдаленное влияние курса ЧССМ на уровень моторных функций. По вертикальной оси: изменение количества баллов по шкале GMFM-88, определенных сразу после окончания курса и перед курсом ЧССМ (После-До) и через 2-6 месяцев после окончания курса и перед курсом (Отдал-До). Под горизонтальной осью рядом с шифром пациента указан срок отдаленного тестирования в месяцах.

Таким образом, получено, что использование ЧССМ одновременно с локомоторными тренировками приводит к «нормализации» (приближению к показателям, полученным на нормально развивающихся сверстниках) двигательных функций у пациентов с ДЦП. Это проявляется как при проведении стандартных клинических исследований (GMFM-88, L-FORCE, L-ROM), так и при использовании оригинальных физиологических методов (определение степени ко-активации). По результатам всех использованных тестов – «нормализация» качественно и количественно значительно выражена при использовании ЧССМ на фоне занятий на тренажере, чем только при занятиях на тренажере. Лонгитюдные исследования, проведенные на большой группе пациентов с ДЦП, с которыми регулярно проводили стандартные реабилитационные мероприятия, состоящие в том числе и в механотерапии, показали, что пациенты, относящиеся по системе классификации GMFCS к уровню III, в 8-10 лет достигают максимально возможных для них значений при

оценке по шкале GMFM-66 (производная от шкалы GMFM-88), с возрастом эти оценки не увеличиваются или даже немного уменьшаются (Hanna et al., 2008). Именно на такой тяжелой категории пациентов мы получили, что в контрольной группе прирост баллов по шкале GMFM-88 зарегистрирован меньше, чем в 50% случаев и, в среднем, составил <0.5% по шкале GMFM-88 (Рисунок 5.4), что полностью соответствует этим всеми признанным результатам. В группе, где использовали ЧССМ, прирост баллов получен в 93% случаев и, в среднем, по группе он составил ~3% по шкале GMFM-88 (Рисунок 5.4), то есть зарегистрирована стойкая положительная динамика в развитии основных двигательных навыков у 9-летних пациентов с тяжелой формой ДЦП, что, в соответствии с цитируемой публикацией, обычно не происходит. Повторные исследования, проведенные на 10 пациентах основной группы, показали, что эффект реабилитации с применением ЧССМ остается, в основном, на достигнутом уровне через 2-6 месяцев после окончания курса (Рисунок 5.7). Эти результаты говорят о том, что ЧССМ вместе с механотерапией может быть эффективным способом двигательной реабилитации пациентов с ДЦП.

Нарушения двигательной активности, которые наблюдают при ДЦП, связывают с патологическим характером супраспинальных связей в процессе онтогенеза, в нарушении внутрисегментарных связей. Активно обсуждается связь двигательных нарушений при ДЦП с недостаточностью реципрокного ингибирования 1 α -афферентов, пресинаптического ингибирования и нереципрокного 1 β -ингибирования (Filloux, 1996). Именно этими нарушениями объясняют спастичность и ко-активацию мышц при ДЦП. Мы зарегистрировали, что после курса ЧССМ увеличивается объем движений как в тазобедренном, так и в коленном суставах (Рисунок 5.5), что косвенно свидетельствует о снижении спастичности, уменьшается коактивация мышц голени и бедра. Аналогичные изменения, но относящиеся только к мышцам бедра, наблюдали после тренировки на Локомате. В основной группе, в отличие от

контрольной, была выявлена также «нормализация» силы изометрического сокращения при сгибании и разгибании колена. Объяснение этого феномена мы связываем с тем, что при тренировке на Локомате движения в коленном суставе осуществляются пассивно, зрительная биологическая обратная связь контролирует и в игровой форме принуждает пациента корректировать направление и силу движений в тазобедренном суставе, при этих движениях мышцы голени не активны. При ЧССМ с расположением стимулирующего электрода в области L1 позвонка в фокус стимуляции попадают моторные пулы мышц голени, а в области T11 позвонка – мышц бедра (Kendall et al., 1993, Sharrard, 1955). Это подтверждено электромиографической регистрацией ответов мышц ног на однократную стимуляцию в этих локусах (Sayenko et al., 2015). Недавно было показано, что ЧССМ увеличивает силу мышц у пациентов с травмой спинного мозга (Lu et al., 2016). Таким образом, во время локомоторной тренировки, стимулируя на двух уровнях спинной мозг пациентов с ДЦП, мы активируем на этих двух уровнях патологические тормозно-возбудительные связи и такая активация, возможно, приводит к «нормализации» функции.

Мы сейчас не в состоянии окончательно ответить на вопрос, может ли ЧССМ корректировать, перенастраивать работу ненормально развивающихся спинальных локомоторных сетей. После курса ЧССМ мы зарегистрировали устойчивую «нормализацию» функций, за которые отвечают нейронные сети поясничного утолщения, это косвенно свидетельствует о произошедшей перенастройке сетей. Результаты исследований на животных показали, что электрическая стимуляция спинного мозга вызывает изменение не только функции, но и нейрональной структуры и межнейронных связей (Lavrov et al., 2006; и т.п.). Раннее мы показали, что у пациентов с воспалительными заболеваниями и травмой спинного мозга курс электрической эпидуральной стимуляции спинного мозга приводит к появлению ранее

отсутствовавших полисинаптических рефлекторных ответов мышц ног на одиночную тестовую стимуляцию спинного мозга, то есть происходит перераспределение связей (Мошонкина и др., 2012).

Полученные результаты допускают, что в спинальных локомоторных сетях пациентов с ДЦП после курса ЧССМ произошли перестройки, проявившиеся в устойчивом улучшении двигательных функций. Чтобы получить убедительные доказательства того, что стимуляция спинного мозга может перераспределять связи и менять значимость этих связей в аномально развивающихся спинальных сетях, необходимы дополнительные электрофизиологические исследования влияния стимуляции спинного мозга на рефлекторную активность спинного мозга у пациентов с ДЦП, возможно, с использованием методов нейровизуализации, требуется проведение гистологических и электрофизиологических исследований на животной модели ДЦП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представление об интегративной деятельности нервной системы было введено Чарлзом Шеррингтоном (Sherrington, 1906). Он постулировал, что нервная система – это одна из тех особенностей устройства многоклеточных животных, которая делает из совокупности органов целостный организм, индивидуальность. В отличие от соединительной ткани и оболочек, которые механически объединяют клетки в органы, а органы в организм, в отличие от крови, которая перемещает вещества между органами, и таким образом объединяет органы в единое целое, нервная система соединяет удаленные органы, передавая физико-химические возмущения (“physico-chemical disturbance”) по живым волокнам. Поэтому в отличие от других систем организма, участвующих в передаче информации, нервная система характеризуется относительно большой скоростью и именно эта своеобразная особенность интеграции отличает животных от растений, у которых нет нервной системы в обычном смысле этого слова. Однозначно можно утверждать, что именно интегративная роль нервной системы является главным условием, обеспечивающим возможность животных передвигаться в пространстве, так как нервная система успевает реагировать на изменения окружающей среды, происходящие в процессе перемещения особи.

Исследования интегративной функции нервной системы в последние годы стали особенно актуальными: «Среди многих ученых мира все более нарастает разочарование в аналитических исследованиях, в частности молекулярного и клеточного уровня, которые, будучи сами по себе высоко научно значимыми, тем не менее трудно приложимы для объяснения целостных функций мозга человека в его теснейших связях с окружающей средой» (Судаков, 2003).

Проведено исследование интегративных механизмов моторного контроля интактного и поврежденного спинного, участвующих в запуске и управлении локомоцией.

Была исследована роль афферентов, и в частности, рецепторов опорной поверхности стопы, в инициации движений. В поведенческих экспериментах показано, у хронических спинализированных животных механическая стимуляция рецепторов проприоцептивной и тактильной сенсорных систем (локомоторные тренировки на тредбане) приводит к появлению движений парализованных задних конечностей и к восстановлению функции поддержки веса тела. Раздражение стопы является ключевым моментом для запуска движений задних конечностей. Частичная деафферентация задних конечностей, сочетающаяся со спинализацией, замедляет восстановлений локомоции после спинализации, несмотря на локомоторные тренировки после травмы.

Результаты наших экспериментов, как и ранее полученные в экспериментах на кошках данные (Bouyer, Rossignol, 2003), демонстрируют, что в отсутствии супраспинальных влияний афференты продолжают участвовать в регуляции локомоторной активности, влияя прежде всего на фазу опоры при ходьбе, определяя устойчивость во время локомоции и готовя последующую фазу переноса. Таким образом, интегративная функция дистального отдела спинного мозга реализуется в генерации ритмики спинальными локомоторными сетями, а со стороны кожных афферентов и рецепторов опоры – в инициации этой ритмики, в обеспечении позы при ходьбе и в подготовке фазы переноса конечности.

Гистологическими методами показано, что восстановление локомоции в ответ на длительную стимуляцию афферентов коррелирует с изменениями в структуре дистального отдела спинного мозга, которое выражается, прежде всего, в морфологически сохранной структуре мотонейронов ниже места травмы. В этих условиях частичная

деафферентация проявляется в повреждении нейронов спинного мозга и разрастание глии.

Кроме фундаментального значения наш результат имеет значимый практический выход – при реабилитации двигательных нарушений, адресованной к спинальным механизмам локомоции, крайне важно активировать как спинальные центры, так и кожные афференты и рецепторы опоры.

Была исследована роль серотонинергической системы в организации движений на уровне спинного мозга, так как ранее было показано, что в отсутствии супраспинальных влияний серотонинергическая система играет существенную роль в локомоторном контроле (Barbeau, Rossignol, 1990; Chauet al., 1998; и др.), то есть одним из важных интегративных механизмов моторного контроля является серотониновая регуляция. В поведенческих экспериментах на хронических спинализированных крысах с последующими после травмы тренировками на тредбане или без таких тренировок показано, что введение агониста серотониновых рецепторов значительно улучшает восстановление локомоции: активация серотониновой системы оказывает такое же влияние, как и стимуляция афферентной системы, балльные оценки локомоторной активности в группах животных, которым вводили агонист и не тренировали или не вводили и тренировали, достоверно не отличаются на протяжении всего тестового периода (Рисунок 3.2). Известно, что агонист серотониновых рецепторов модулирует активность афферентов, участвующих в регуляции локомоции: оказывает тормозное влияние на нейроны афферентов группы II (Jankowska et al., 1997), тормозит передачу от афферентов флексорного рефлекса на мотонейроны (Anden et al., 1968), модулирует возбудимость первичных афферентов (Carstens et al., 1987; Hentall, Fields, 1983). В гистологическом исследовании показано, что введение квипазина приводит к заметному увеличению количества активных мотонейронов и к увеличению числа синаптических контактов на нейронах этого же слоя,

но не влияет на нейроны и число синаптических контактов в других отделах спинного мозга (Рисунки 3.3, 3.4). Таким образом, мы получили новые данные о том, что серотониновая система участвует в регуляции локомоции, но не участвует в генерации локомоторного паттерна.

Одновременная стимуляция афферентной и серотонинергической систем приводит не только к восстановлению циклических локомоторных движений парализованных конечностей, но и к восстановлению функции поддержки веса тела с постановкой лапы на опорную поверхность стопы уже через две недели после травмы (Рисунок 3.2). Мы предполагаем, что раннее восстановление локомоции в этом случае связано с активацией экстензоров. Этот факт был продемонстрирован на хронических спинализированных крысах в течение 15-30 мин после введения квипазина (Sławińska et al., 2014). В своих исследованиях мы проводили локомоторное тестирование через три дня после 5 последовательных дней введения квипазина и, таким образом, впервые показали, что активация серотониновой системы в сочетании с естественной афферентной стимуляцией вызывает устойчивый эффект активации экстензоров. В гистологическом и иммуногистохимическом исследовании показано, что квипазин оказывает действие на спинальные локомоторные сети только в сочетании с активацией афферентной системы (Рисунки 3.4, 3.6). Вероятно, именно это обстоятельство является причиной того, что у спинальных животных агонисты серотониновой системы не инициируют, а модулируют локомоторную активность, вызванную иным способом (Barbeau, Rossignol, 1990; Chauet al., 1998; и др.).

Таким образом, сочетая в одном эксперименте поведенческие и иммуногистохимические методы, мы впервые однозначно показали, что серотонин регулирует активность спинальных локомоторных сетей на фоне афферентного воздействия. Ранее такой вывод делали на основании косвенных доказательств.

Очевидно, что фундаментальные знания об интегративных механизмах моторного контроля, реализуемых на уровне спинного мозга, не могут основываться только на результатах, полученных в экспериментах на лабораторных животных, – необходимы данные о механизмах управления локомоторными движениями у человека. Во-первых, потому что у подавляющего большинства лабораторных животных квадрипедальная походка, а человек – двуногое существо, и такая неустойчивая позиция может существенно влиять на механизмы управления локомоцией. Во-вторых, сознание, то есть высшие корковые функции, во многом определяет движения человека на протяжении всей его жизни (Ананьев, 1968; Bloom et al., 1985; и др.), поэтому участие спинного мозга в управлении локомоцией может быть иным, чем у животных. Кроме того, чем детальнее наши знания об управлении локомоцией именно у человека, тем больше наука фундаментальная физиология движений может привнести в разработку реабилитации двигательных нарушений у человека вследствие тех или иных заболеваний.

В результате наших исследований был разработан неинвазивный способ вызова шагательных движений у здоровых испытуемых посредством чрескожной электрической стимуляции спинного мозга. Таким образом было показано, что в норме в спинном мозге человека существуют нейронные сети, при воздействии на которые можно инициировать шагательные движения. Новизна результата состоит в том, что ранее только на пациентах с травмой спинного мозга было показано, что у человека, как и у всех на тот момент исследованных позвоночных животных, существуют в спинном мозге нейронные сети, которые могут инициировать шагоподобные движения (Dimitrijevic et al., 1998). Однако эти результаты были получены у пациентов после травмы спинного мозга, то есть на структуре, в которой произошли адаптивные перестройки.

Доказана возможность управления спинальными локомоторными сетями человека с помощью неинвазивных воздействий на спинной мозг.

Доказано, что ЧССМ - удобный инструмент для исследования механизмов регуляции локомоторного поведения у здоровых испытуемых, потому что можно дозировать воздействие, можно менять место приложения, можно синхронизировать с иными воздействиями на организм и т.д. Кроме того, ЧССМ может быть использована в реабилитационном лечении двигательных функций как альтернатива инвазивной эпидуральной электрической стимуляции спинного мозга, а в иных случаях – когда хирургическое вмешательство для установки электродов невозможно, ЧССМ -- единственный возможный способ реабилитации двигательных нарушений.

Показано, что у человека, как и у животных (Shah et al., 2016; Wenger et al., 2016), электростимуляция спинного мозга на двух и более уровнях влияет на паттерн вызываемых движений и, следовательно, может быть использована для управления этими движениями. Это доказывает, что у человека, как и у исследованных животных, на разных уровнях спинного мозга располагаются спинальные нейронные сети с разными функциями.

Впервые показано, что у человека электростимуляция шейного отдела спинного мозга усиливает эффект стимуляции локомоторных сетей, расположенных в поясничном утолщении спинного мозга. У квадрипедальных животных доказана функциональная связь между локомоторными сетями передних и задних конечностей (Шик, Орловский, 1965; Cazalets, Bertrand 2000; и др.), а также между локомоторными сетями рук и ног у человека (Zehr, Duysens, 2004; Zehr et al. 2009; и др.) и эта связь осуществляется по длинным проприоспинальным связям (Yamaguchi, 1986). Если ранее была высказана гипотеза о том, что нейроны проприоспинальной системы способны активировать спинальные интернейроны, участвующие в организации движений (Shik 1997; Jordan, Schmidt 2002), то полученные нами данные, связанные со стимуляцией шейного отдела спинного мозга: у одного испытуемого (В.С., Рисунок 4.12) стимуляция вызывала движения ног, у всех испытуемых стимуляция

шейного отдела в течение 1-2 шагательных циклов увеличивала амплитуду движений, вызванных стимуляцией поясничного утолщения (Рисунок 4.13), -- доказывают, что у человека проприоспинальная система модулирует активность спинальных локомоторных сетей.

В исследованиях афферентной регуляции локомоторных движений у человека было получено, что механическая стимуляция мышц и сухожилий верхних и нижних конечностей, а также стимуляция опорной поверхности стоп (СОПС) меняет паттерн непроизвольных шагательных движений, вызываемых ЧССМ. Доказано, что вибрация мышц руки нормализует распределение активности между мышцами-антагонистами, и это приводит к тому, что паттерн непроизвольных движений, вызванных ЧССМ, приближается к паттерну произвольных движений ног (Рисунок 4.16Б, В). При вертикальном положении тела человека для некоторых испытуемых СОПС была эффективна для вызова локомоции, для других – ЧССМ, однако всегда одновременное воздействие на афферентные и на спинальные входы было эффективно и имело максимальный эффект. СОПС и ЧССМ меняли паттерн произвольных локомоторных движений, что демонстрирует сходимость афферентной и супраспинальной регуляции на уровне спинальных локомоторных сетей. Эти результаты доказывают, что проприоцептивные и кожные сенсорные входы могут быть основными источниками контроля движений даже при нарушенном супраспинальном входе. Сначала мы получили доказательства в результате экспериментов на спинальных животных, потом подтвердили в экспериментах на здоровых добровольцах.

Результаты экспериментальных исследований роли афферентов, роли серотонинергической системы в организации локомоторных движений и новые методы управления непроизвольными локомоторными движениями у человека были транслированы в практику нейрореабилитации двигательных нарушений вследствие неврологических заболеваний.

В результате исследований на спинальных пациентах было получено, что краткосрочный курс неинвазивной электрической стимуляции спинного мозга в сочетании с механотерапией влияет на неврологические показатели пациентов с хроническими полным и неполным поражением спинного мозга в грудном отделе – вызывает положительную динамику в изменении рутинных моторных и сенсорных клинических тестов. Перспективным кажется возможность использования этих методов для восстановления утраченной самостоятельной двигательной активности у парализованных пациентов вследствие травмы или заболевания спинного мозга. Подтверждением этому является недавно опубликованное исследование, в котором показано, что непрерывная, в течение нескольких месяцев, электростимуляция спинного мозга в сочетании с тренировкой совершать произвольные движения парализованной конечностью приводит к восстановлению произвольных движений (Gerasimenko et al., 2015).

Мы показали, что сопровождение курса нейрореабилитации, состоящей из механотерапии и ЧССМ, фармакологической активацией серотониновых рецепторов с помощью буспирона, усиливает эффект стимуляции спинного мозга. Это проявляется как в увеличение стандартных клинических оценок двигательных и сенсорных возможностей в группе пациентов, принимавших буспирон по сравнению с группой принимавших плацебо, так и в том, что тактильная и болевая чувствительность в группе принимавших агонист демонстрируют тенденцию к увеличению после завершения реабилитационного курса (Рисунок 5.1).

В клинических исследованиях на группе детей с тяжелой формой детского церебрального паралича мы исследовали, может ли активация локомоторных нейронных сетей с помощью ЧССМ улучшать моторное развитие, корректировать работу спинальных локомоторных сетей, ненормально развивающихся из-за патологических изменений в головном

мозге. Получено, что использование ЧССМ одновременно с локомоторными тренировками на роботизированном комплексе Локомат приводит к «нормализации» (приближению к показателям, полученным на нормально развивающихся сверстниках) двигательных функций. Это проявляется как при проведении рутинных клинических исследований (GMFM-88, L-FORCE, L-ROM), так и при использовании лабораторных физиологических методов (определение степени ко-активации). По результатам всех использованных тестов – «нормализация» качественно и количественно значительно выражена при использовании ЧССМ на фоне занятий на тренажере, чем только при занятиях на тренажере. Особенno важно, что результат получен у тяжелых пациентов (GMFCS III, 8-10 лет), у которых двигательная реабилитация обычно не приводит к заметному улучшению моторного развития (Hanna et al., 2008). Полученные оценки моторного развития сохранялись у этих пациентов и через несколько месяцев после окончания реабилитационного курса (Рисунок 5.7). Это свидетельствует о том, что в спинальных локомоторных сетях пациентов с ДЦП после курса ЧССМ произошли перестройки, проявившиеся в устойчивом улучшении двигательных функций. Таким образом, было получено, что метод неинвазивной электрической стимуляции спинного мозга может быть использован для регуляции функций как спинальных локомоторных сетей, утративших, супраспинальные связи, но до этого нормально функционировавших, так и этих сетей, развивающихся в условиях патологических влияний со стороны головного мозга, не функционировавших нормально на протяжении всего своего развития.

ВЫВОДЫ

1. Экспериментально доказано на хронических животных с полной перерезкой спинного мозга, что навязанная локомоторная активность (тренировка на тредбане) приводит к появлению движений задних конечностей и восстановлению функции поддержки веса тела. Раздражение стопы является ключевым моментом для запуска движений задних конечностей. Морфологическое изучение поясничного утолщения выявило, что у тренированных крыс происходит реорганизация и нормализация структуры мотонейронов, интернейронов и афферентного звена в дистальном отделе перерезанного спинного мозга.

2. Деафферентация задних конечностей при спинализации и последующей тренировке не только замедляет восстановление двигательных функций, но и приводит к утрате восстановленных двигательных навыков, обнаружено повреждение нейронов спинного мозга и разрастание глии. Эти факты доказывают, что в отсутствии супраспинальных влияний опорные реакции продолжают участвовать в регуляции двигательной активности.

3. Установлено, что серотонинергическая система играет значительную роль в организации локомоторных движений. Действие неселективного агониста рецепторов серотонина (квипазина), приводит не только к улучшению локомоторной активности животных после перерезки спинного мозга, но и способствует сохранению морфологических характеристик большинства нейронов спинного мозга, расположенных ниже места перерыва.

4. На здоровых испытуемых впервые получены доказательства существования у человека спинальных локомоторных сетей, продемонстрированы возможности управления этими сетями с помощью многоуровневой чрескожной стимуляции спинного мозга, а также с применением накожных матриц, расположенных над спинным мозгом

и корешками спинного мозга. Показана возможность управления постуральными и локомоторными функциями и их взаимодействия при межсегментарной стимуляции спинного мозга.

5. Установлено, что у здоровых испытуемых стимуляция афферентов, в частности, вибростимуляция мышц и сухожилий верхних и нижних конечностей, а также стимуляция опорной поверхности стоп меняет паттерн шагательных движений, вызываемых неинвазивной стимуляцией спинного мозга, приближая паттерн вызванных движений к паттерну естественных локомоторных движений. Это свидетельствует о конвергенции нисходящих проприоспинальных и восходящих проприоцептивных влияний на нейронные локомоторные сети. Эффект их облегчающего влияния быть использован в двигательной реабилитации пациентов с неврологическими нарушениями.

6. В клинических исследованиях показано, что неинвазивная электрическая стимуляция спинного мозга в сочетании с механотерапией влияет на неврологические показатели пациентов с хроническими полными и неполными нижними параплегиями вследствие травмы спинного мозга, то есть может регулировать спинальные локомоторные сети человека в отсутствии нормальных супраспинальных влияний. Активация серотониновых рецепторов у этих пациентов усиливает эффект стимуляции спинного мозга.

7. Показано, что применение неинвазивной электрической стимуляции спинного мозга одновременно с локомоторными тренировками у детей с детским церебральным параличом приводит к нормализации (приближению к показателям, полученным у normally развивающихся сверстников) двигательных функций и координации движений, что доказывает возможность перенастраивать работу ненормально развивающихся спинальных локомоторных сетей у человека.

СПИСОК ЦИТИРОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ананьев Б. Г. Человек как предмет познания. — СПб: Питер, 2001.
2. Андрианова Г.Г., Коц Я.М., Мартынов В.А., Хвилон В.А. Применение электростимуляции для тренировки мышечной силы // Новости медицинского приборостроения. - 1971. - № 3. – С.40-47.
3. Анохин П. К. Биология и нейрофизиология условного рефлекса. – М.: Медицина, 1968.
4. Балабан П.М., Воронцов Д.Д., Дьяконова В.Е., Дьяконова Т.Л., Захаров И.С., Коршунова Т.А., Орлов О.Ю., Павлова Г.А., Панчин Ю.В., Сахаров Д.А., Фаликман М.В. Центральные генераторы паттерна. // Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова. - 2013. - Т.63, №5 – С. 520-541.
5. Бернштейн Н. А. О ловкости и ее развитии. Научно-популярное издание. – М.: Физкультура и спорт, 1991.
6. Богачева И.Н., Мусиенко П.Е., Щербакова Н.А., Мошонкина Т.Р., Савохин А.А., Герасименко Ю.П. Анализ локомоторной активности у децеребрированных кошек при электромагнитной и эпидуральной электрической стимуляции спинного мозга. // Росс. физiol. ж. им. И.М. Сеченова. - 2012. - Т. 98, №9. - С. 1079-1093.
7. Васильев Д.Р., Ескин А.Е, Казанцев Ю.И., Сачков А.В, Ушаков А.А. Устройство для воздействия электрическим током. – Патент на изобретение RU 2090215. Дата публикации 20.09.1997.
8. Герасименко Ю.П. Генераторы шагательных движений человека: спинальные механизмы их активации. // Авиакосмическая и экологическая медицина. - 2002. - Т. 36, №3. – С. 14-24.
9. Герасименко Ю.П., Авельев В.Д., Никитин О.А., Лавров И.А. Инициация локомоторной активности спинализированных кошек при эпидуральной стимуляции спинного мозга // Росс. физiol. ж. им. И.М. Сеченова. - 2001. – Т.87, №9. – С. 1161-1170.

10. Герасименко Ю.П., Городничев Р.М., Авелев В.Д., Щербакова Н.А., Иванов С.М., Мусиенко П.Е., Мошонкина Т.Р., Эджертон Р. Способ стимуляции спинного мозга. – Патент на изобретение RU 2393885. Дата публикации 03.12.2008

11. Герасименко Ю.П., Городничев Р.М., Мошонкина Т.Р., Килимник В.А., Эджертон Р. Способ накожной электростимуляции спинного мозга. – Патент на изобретение RU 2529471. Дата публикации 2014.09.27.

12. Герасименко Ю.П., Городничев Р.М., Мошонкина Т.Р., Савохин А.А., Шупляков В.С., Эджертон Р. Способ накожной электростимуляции спинного мозга. – Патент на изобретение RU 2545440. Дата публикации 27.03.2015.

13. Герасименко Ю.П., Лавров И.А., Богачева И.Н., Щербакова Н.А., Кучер В.И., Мусиенко П.Е. Особенности формирования локомоторных паттернов у децеребрированной кошки при эпидуральной стимуляции спинного мозга. // Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. – 2003. – Т. 89, №9. - С. 1046-1057.

14. Герасименко Ю.П., Макаровский А.Н., Никитин О.А. Управление локомоторной активностью человека и животных в условиях отсутствия супраспинальных влияний // Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. - 2000. - Т. 86, №11. - С. 1502-1511.

15. Герасименко Ю.П., Мошонкина Т.Р., Павлова Н.В., Томиловская Е.С., Козловская И.Б. Морфофункциональное исследование участия серотонинергической системы в контроле постуральных и локомоторных функций. // Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. - 2012. - Т. 98, №12. - С. 1595-1603.

16. Гилерович Е.Г., Мошонкина Т.Р., Павлова Н.В., Федорова Е.А., Новиков Г.И., Герасименко Ю.П., Отеллин В.А. Морфофункциональные характеристики дистального отдела спинного мозга крыс после его полной экспериментальной перерезки с последующей тренировкой животного на

тредбане. // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. - 2008. - Т. 44, №6. - С. 636-643.

17. Гилерович Е.Г., Мошонкина Т.Р., Федорова Е.А., Шишко Т.Т., Павлова Н.В., Герасименко Ю.П., Отеллин В.А. // Морфология. - 2007. - Т. 132, №5. - С. 33-37.

18. Городничев Р.М., Мачуева Е.М., Пивоварова Е.А., Семенов Д.В., Иванов С.М., Савохин А.А., Герасименко Ю.П. Новый способ активации генераторов шагательных движений у человека // Физиология человека. – 2010. - Т. 36, №6. – С. 95-103.

19. Городничев Р.М., Пивоварова Е.А., Пухов А., Моисеев С.А., Савохин А.А., Мошонкина Т.Р., Щербакова Н.А., Килимник В.А., Селионов В.А., Козловская И.Б., Эджертон Р., Герасименко Ю.П. Чрезкожная электрическая стимуляция спинного мозга: неинвазивный способ активации генераторов шагательных движений у человека. // Физиология человека. - 2012. - Т. 38, №2. - С. 46-56.

20. Григорьев А.И., Козловская И.Б., Шенкман Б.С. Роль опорной афферентации в организации тонической мышечной системы // Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. - 2004. - Т. 90, №5. - С. 508-521.

21. Гурфинкель В.С., Левик Ю.С., Казенников О.В., Селионов В.А. Существует ли генератор шагательных движений у человека? // Физиология человека. - 1998. - Т. 24, №3. - С. 42.

22. Зеелигер А., Мельник Н.Ю. Длительная эпидуральная электростимуляция как метод лечения хронических болевых синдромов. // Нейрохирургия. - 2009. - №2. – С. 39-43.

23. Иваненко Ю.П. Структурно-функциональная и информационная организация моторного выхода системы управления позой и ходьбой человека: дис. ... д-ра. биол. наук: 03.01.09 / Иваненко Юрий Петрович. М., 2015. - 188 с.

24. Исагулян Э.Д. Хроническая электростимуляция спинного и головного мозга в лечении нейрогенных болевых синдромов: автореф.

дис. ... канд. мед. наук: 14.01.18 / Исагулян Эмиль Давидович. - М., 2006. – 16 с.

25. Казенников О.В., Киреева Т.Б., Шлыков В.Ю. Воздействие вибрации ахилловых сухожилий на вертикальную позу человека при несимметричной нагрузке на ноги. // Физиология человека. - 2014. – Т. 40, №1. – С. 82-89.

26. Козловская И.Б. Афферентный контроль произвольных движений. – М.: Наука, 1976.

27. Королев А.А., Суслова Г.А. Нейротрансмиттеры в регуляции движений и развитии спастических двигательных нарушений. // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2012. – №1. – С. 92-96.

28. Коц Я.М., Хвилон В.А. Тренировка мышечной силы методом электростимуляции // Теория и практика физической культуры. - 1971. - №4. - С. 66-73.

29. Кремнева Е.И., Саенко И.В., Черникова Л.А., Червяков А.В., Коновалов Р.Н., Козловская И.Б. Особенности активации зон коры головного мозга при стимуляции опорных рецепторов в норме и при очаговых поражениях ЦНС. // Физиология человека. - 2013. - Т. 39, №5. – С. 86-92.

30. Лебедев В.П., Савченко А.Б., Отеллин В.А., Кучеренко Р.П. Участие серотонинового звена в нейрохимическом механизме транскраниальной электроанальгезии. // Физиологический журнал СССР им. И.М. Сеченова. – 1995. - Т. 81, №10. - С. 36-43.

31. Левченкова В.Д., Семёнова К.А. Современные представления о морфологической основе детского церебрального паралича // Журнал неврологии и психиатрии. – 2012. – Т. 7, №2. – С. 4-8.

32. Макаровский А.Н. Комплексное хирургическое лечение больных со спинномозговыми расстройствами при туберкулезном спонделите и последствиях вертебро-спинальной травмы: автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.00.27 / Макаровский Андрей Никлаевич. – СПб, 2004. – 32 с.

33. Макаровский А.Н., Гарбуз А.А., Герасименко Ю.П. Методические рекомендации N 96/269. - М.: Министерство здравоохранения РФ, 1998.
34. Макаровский А.Н., Герасименко Ю.П., Олейник В.В. Эпидуральная электростимуляция спинного мозга в диагностике и лечении спинальных больных старших возрастных групп. // Профилактическая и клиническая медицина МЗ и Соц. развития РФ. – 2010. - С. 83-188.
35. Макаровский А.Н., Герасименко Ю.П., Олейник В.В., Мошонкина Т.Р., Решетнева Е.В. Клинические аспекты восстановления функций спинного мозга у больных с вертебро-медуллярным конфликтом на фоне эпидуральной электростимуляции. // Высокие технологии, исследования, образование в физиологии, медицине и фармакологии. - Т. 1. – 2012. – С. 262-258.
36. Медведев С.В., Пузенко В.Ю., Гурчин Ф.А. Электростимуляция спинного мозга. / В кн. Электрическая стимуляция мозга и нервов человека. - Л.: Наука, 1990. - С. 156-192.
37. Мошонкина Т.Р., Гилерович Е.Г., Федорова Е.А., Авелев В.Д., Герасименко Ю.П., Отеллин В.А. Морфофункциональные основы восстановления локомоторных движений у крыс с полной перерезкой спинного мозга. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2004. - Т. 138, №8. - С. 225-228.
38. Мошонкина Т.Р., Макаровский А.Н., Богачева И.Н., Щербакова Н.А., Савохин А.А., Герасименко Ю.П. Эффекты электрической стимуляции спинного мозга у пациентов с вертебро-спинальной патологией. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2012. - Т. 153, №1. - С. 21-26.
39. Мошонкина Т.Р., Мусиенко П.Е., Богачева И.Н., Щербакова Н.А., Никитин О.А., Савохин А.А., Макаровский А.Н., Городничев Р.М., Герасименко Ю.П. Регуляция локомоторной активности при помощи эпидуральной и чрескожной электрической стимуляции спинного мозга

у животных и человека. // Ульяновский медико-биологический журнал. - 2012. - №3. - С. 129-137.

40. Мошонкина Т.Р., Шапкова Е.Ю., Сухотина И.А., Емельянников Д.В., Герасименко Ю.П. Исследование сочетания неинвазивной электрической стимуляции спинного мозга и активации серотониновых рецепторов у пациентов с хроническим поражением спинного мозга. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2016. - Т. 161, №6. - С. 700-705.

41. Мусиенко П.Е., Богачева И.Н., Герасименко Ю.П. Значение периферической обратной связи в генерации шагательных движений при эпидуральной стимуляции спинного мозга. // Российский физиологический журнал им. ИМ Сеченова. - 2005. - Т. 91, №12. - С. 1407-1420.

42. Никитин О.А., Богачева И.Н., Мусиенко П.Е., Савохин А.А., Герасименко Ю.П. Афферентная активация генератора шагательных движений у спинализированной кошки в ранний период после спинализации. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. - 2007. - №6. - С. 22-30.

43. Нинель В.Г., Лившиц Л.Я., Меламуд Э.Е., Электростимуляция спинного мозга как метод лечения хронических нейрогенных болевых синдромов туловища и конечностей. - Саратов СарНИИТО. – 2006.

44. Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л. Анатомия крысы. – СПб: Лань, 2001.

45. Солопова И.А., Селионов В.А., Жванский Д.С., Гришин А.А. Взаимовлияние верхних и нижних конечностей при циклических движениях. // Физиология человека. – 2011. – Т. 37, №3. – С. 55-64.

46. Судаков К.В. Приоритетные фундаментальные исследования интегративной деятельности нервной системы. // Вестник РАМН. – 2003. - №9. – С. 3-6.

47. Томиловская Е.С., Мошонкина Т.Р., Городничев Р.М., Шигуева Т.А., Закирова А.З., Пивоварова Е.А., Савохин А.А., Селионов В.А., Семенов Ю.С., Бревнов В.В., Китов В.В., Герасименко Ю.П., Козловская И.Б. Механическая стимуляция опорных зон стоп: неинвазивный способ активации генераторов шагательных движений у человека. // Физиология человека. - 2013. - Т. 39, №5. - С. 34-39.
48. Цыкунов М.Б., Иванова Г.Е., Найдин В.Л., Дутикова Е.М., Бжилянский М.А., Романовская Е.В. Обследование в процессе реабилитации пациентов с повреждением спинного мозга. / В кн. Реабилитация больных с травматической болезнью спинного мозга. - М.: ОАО Московские учебники и Картолитография, 2010. - С. 317-319.
49. Цымбалюк В.И., Яминский Ю.Я., «Применение метода эпидуральной электростимуляции в восстановительном хирургическом лечении больных с последствиями травматического повреждения шейных сегментов спинного мозга. // Украинский нейрохирургический журнал. - 2011. - Т. 53, №1. – С. 36-43.
50. Шабалов В.А. Функциональная нейрохирургия. Лечение тяжелых болевых синдромов. // Клиническая неврология. / Под ред. А.Н. Коновалова. – 2004. – Т. 3, №2. – С. 403-419.
51. Шапков Ю.Т., Шапкова Е.Ю., Мушкин А.Ю. Способ лечения больных с поражением спинного мозга. - Патент на изобретение RU 2130326. Дата публикации 20.05.1999.
52. Шапкова Е.Ю. Нейрореабилитация при миелопатиях, вызванных туберкулезом и другими заболеваниями позвоночника. // Проблемы туберкулеза. - 2007. – Т. 84, №1. – С. 49-54.
53. Шапкова Е.Ю. Способ вызова локомоции у больных с поражением спинного мозга. - Патент на изобретение RU 2142737. Дата публикации 26.11.1997.

54. Шапкова Е.Ю., Мушкин А.Ю., Гуторко В.А. Способ лечения больных с хроническим поражением спинного мозга. - Патент на изобретение RU 2204423. Дата публикации 20 05 2003.
55. Шаповалов А.И. Эволюция нейронных систем надсегментарного моторного контроля. // Нейрофизиология. – 1972. – Т. 4, №5. – С. 453-470.
56. Шеррингтон Ч. С. Интегративная деятельность нервной системы. – Л.: Наука, 1969.
57. Шик М.Л., Орловский Н.Г. Координация конечностей при беге собаки. // Биофизика. - 1965. - Т.10, №6. - С. 1037-1047.
58. Шмальгаузен И.И. Интеграция биологических систем и их саморегуляция. // Бюлл. Моск. о-ва испытат. природы. Отд. биол. – 1961. – Т. 66, №2. – С. 104-134.
59. Щербакова Н.А., Мошонкина Т.Р., Савохин А.А., Селионов В.А., Городничев Р.М., Герасименко Ю.П. Неинвазивный метод управления спинальными локомоторными сетями человека. // Физиология человека. - 2016. - Т. 42, №1. - С. 73-81.
60. Alper R.H., Snider J.M. Activation of serotonin-2 (5-HT₂) receptors by quipazine increases arterial pressure and renin secretion in conscious rats. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 1987. – V. 243, N3. – P. 829-833.
61. Anden N.E., Jukes M.G.M., Lundberg A. Spinal reflexes and monoamine liberation. // Nature. - 1964. – V. 202. – P. 1222–1223.
62. Anderson O., Grillner S. Periferal control of the cat's step cycle. I. Phase dependent effects of ramp-movements of the hip during “fictive locomotion”. // Acta Physiol. Scand. – 1981. – V. 113. – P. 89-101.
63. Angeli C.A., Edgerton V.R., Gerasimenko Y.P., Harkema S.J. Altering spinal cord excitability enables voluntary movements after chronic complete paralysis in humans. // Brain. - 2014. - V.137. - P. 1394–1409.
64. Antri M., Barthe J.Y., Mouffle C., Orsal D. Long-lasting recovery of locomotor function in chronic spinal rat following chronic combined

pharmacological stimulation of serotonergic receptors with 8-OHDPAT and quipazine. // *Neurosci. Lett.* - 2005. - V. 384, N1. - P. 162-167.

65. Antri M., Orsal D., Barthe J. Y. Locomotor recovery in the chronic spinal rat: effects of long-term treatment with a 5-HT₂ agonist. // *European Journal of Neuroscience*. - 2002. - V. 16, N3. - P. 467-476.

66. Ballion B., Morin D., Viala D. Forelimb locomotor generators and quadrupedal locomotion in the neonatal rat. // *Eur. J. Neurosci.* - 2001. - V.14. - P. 1727-1738.

67. Barbeau H., Rossignol S. Initiation and modulation of the locomotor pattern in the adult chronic spinal cat by noradrenergic, serotonergic and dopaminergic drugs. // *Brain Res.* - 1991. - V. 546. - P. 250-260.

68. Barbeau H., Rossignol S. The effects of serotonergic drugs on the locomotor pattern and on cutaneous reflexes of the adult chronic spinal cat. // *Brain Res.* - 1990. - V. 514. - P. 55-67.

69. Barolat G. Current status of epidural spinal cord stimulation. // *Neurosurg. Quart.* - 1995. - V. 5, N2. - P. 98-124.

70. Barolat G. Epidural spinal cord stimulation: anatomical and electrical properties of the intraspinal structures relevant to spinal cord stimulation and clinical correlations. // *Neuromodulation: Techn. at Neural Interf.* - 1998. - V. 1, Iss. 2. - P. 63-71.

71. Barolat G., Myklebust J., Wenninger W. Effects of spinal cord stimulation of spasticity and spasms secondary to myelopathy. // *Appl. Neurophysiol.* - 1988. - V. 51. - P. 29-44

72. Barthélémy D., Leblond H., Provencher J., Rossignol S. Nonlocomotor and locomotor hindlimb responses evoked by electrical microstimulation of the lumbar cord in spinalized cats. // *J. Neurophysiol.* - 2006. - V. 96. - P. 3273-3292.

73. Barthélémy D., Leblond H., Rossignol S. Characteristics and mechanisms of locomotion induced by intraspinal microstimulation and dorsal

root stimulation in spinal cats. // J. Neurophysiol. - 2007. – V. 97. - P.1986–2000.

74. Basso M.D., Beattie M.S., Bresnahan J.S. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rat. // J. Neurotrauma. - 1995. – V.12. – P. 1–21.

75. Beato M., Nistri A. Serotonin-induced inhibition of locomotor rhythm of the rat isolated spinal cord is mediated by the 5-HT₁ receptor class. // Proc. R. Soc. Lond. Biol. - 1998. – V. 265. - P. 2073–2080.

76. Bloom F.E., Lazerson A., Hofstadter L. Brain, mind, and behavior. - NY: W. H. Freeman, 1985.

77. Bohannon R.W., Smith M.B. Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. // Phys. Ther. - 1987. – V. 67, N2. – P. 206–207.

78. Bouyer L.J.G., Rossignol S. Contribution of cutaneous inputs from the hindpaw to the control of locomotion. II. Spinal cats. //J. Neurophys. – 2003. – V. 90, N6. – P. 3640-3653.

79. Bove M., Diverio M., Pozzo T., Schieppati M. Neck muscle vibration disrupts steering of locomotion. // J. Appl. Physiol. – 2001. – V. 91. - P. 581-588.

80. Bowker R.M., Westlund K.N., Sullivan M.C., Wilber J.F., Coulter J.D. Descending serotonergic, peptidergic and cholinergic pathways from the raphe nuclei: a multiple transmitter complex. // Brain Res. - 1983. – V. 288, N1-2. - P. 33-48.

81. Brown T.G. Intrinsic factors in the act of progression in the mammal. // Proc. R. Soc Lond. B. – 1911. – Vol. 84. – P. 308-319.

82. Brown T.G. On the nature of the fundamental activity of the nervous centres; together with an analysis of the conditioning of rhythmic activity in progression, and a theory of the evolution of function nervous system. // J. Physiol. Lond. – 1914. – V. 48. – P. 18-46.

83. Brown T.G. The phenomenon of “narcosis progression” in mammals. // Proc. R. Soc. Ser. B. – 1913. – V. 86. – P. 140-164.

84. Burke D., Schiller H.H. Discharge pattern of single motor units in the tonic vibration reflex of human triceps surae. // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. – 1976. – V. 39, N8. – P. 729-741.
85. Bussel B., Roby-Brami A., Azouvi P., Biraben A., Yakovleff A., Held J.D. Myoclonus in a patient with spinal cord transection. // Brain. – 1988. – V. 111, N5. – P. 1235-1245.
86. Cabaj A.M., Majczyński H., Couto E., Gardiner P.F., Stecina K., Ślawińska U., Jordan L. M. Serotonin controls initiation of locomotion and afferent modulation of coordination via 5-HT₇ receptors in adult rats. // J. Physiol. - 2017. – V. 595, N1. – P. 301-320.
87. Calancie B., Needham-Shropshire B., Jacobs P., Willer K., Zych G., Green B A. Involuntary stepping after chronic spinal cord injury. // Brain. - 1994. – V. 117, N5. – P. 1143-1159.
88. Carstens E., Gilly H., Schreiber H., Zimmermann M. Effects of midbrain stimulation and iontophoretic application of serotonin, noradrenaline, morphine and GABA on electrical thresholds of afferent C- and A- fibre terminals in cat spinal cord. // Neurosci. - 1987. – V. 21. – P. 395–406.
89. Cazalets J.R., Bertrand S. Coupling between lumbar and sacral motor networks in the neonatal rat spinal cord. // Eur. J. Neurosci. - 2000. - V. 12. – P. 2993–3002.
90. Cazalets J.-R., Sqalli-Houssaini Y., Clarac F. Activation of the central pattern generators for locomotion by serotonin and excitatory amino acids in neonatal rat. // J. Physiol. (Lond.) - 1992. – V. 455. – P. 187–204.
91. Chau C., Barbeau H., Rossignol S. Early Locomotor training with clonidine in spinal cats. // J. Neurophysiol. - 1998. – V. 79, N1. – P. 392-409.
92. Chopek J.W., MacDonell C.W., Power K.E., Gardiner K., Gardiner P.F. Removal of supraspinal input reveals a difference in the flexor and extensor monosynaptic reflex response to quipazine independent of motoneuron excitation. // J. Neurophysiol. - 2013. – V. 109, N8. – P. 2056-2063.

93. Cina C., Hochman S. Diffuse distribution of sulforhodamine-labeled neurons during serotonin-evoked locomotion in the neonatal rat thoracolumbar spinal cord. // J. Comp. Neurol. – 2000. – V. 423, N4. – P. 590-602.
94. Condliffe E.G., Jeffery D.T., Emery D.J., Gorassini M.A. Spinal inhibition and motor function in adults with spastic cerebral palsy. // J. Physiol. - 2016. – V. 594, N10. – P. 2691–2705.
95. Conway B.A., Hultborn H., Kiehn O. Proprioceptive input resets central locomotor rhythm in the spinal cat. // Exp. Brain Res. – 1987. - V. 68, N3. – P. 643-656.
96. Cook A.W., Weinstein S.P. Chronic dorsal column stimulation in multiple sclerosis. Preliminary report. // N. Y. State J. Med. – 1973. – V. 73, N24. – P. 2868-2872.
97. Courtine G., Harkema S.J., Dy C.J., Gerasimenko Y.P., Dyhre-Poulsen P. Modulation of multisegmental monosynaptic responses in a variety of leg muscles during walking and running in humans. // J. Physiol. - 2007. - V. 582. – P. 1125-1139.
98. Cowley K.C., Schmidt B.J. A comparison of motor patterns induced by N-methyl-D-aspartate, acetylcholine and serotonin in the in vitro neonatal rat spinal cord. // Neurosci. Lett. - 1994. – V. 171. – P. 147–150.
99. Cowley K.C., Zaporozhets E., Schmidt B.J. Propriospinal neurons are sufficient for bulbospinal transmission of the locomotor command signal in the neonatal rat spinal cord. // J. Physiol. - 2008. – V. 586. – P. 1623–1635.
100. Damiano D.L., Martellotta T.L., Quinlivan J.M., Abel M.F. Deficits in eccentric versus concentric torque in children with spastic cerebral palsy. // Med. Sci. Sports. – 2001. – V. 33, N1. – P. 117-122.
101. Daofen C., Theiss R.D., Ebersole K., Miller J.F. Spinal interneurons that receive input from muscle afferents are differentially modulated by dorsolateral descending systems. // J. Neurophysiol. – 2001. – V. 85. – P. 1005-1008.

102. de Noordhout M.A., Rothwell J.C., Thompson P.D., Day B.L., Marsden C.D. Percutaneous electrical stimulation of lumbosacral roots in man. // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* - 1988. - V. 51. - P. 174-181.
103. Deliagina T.G., Orlovsky G.N., Pavlova G.A. The capacity for generation of rhythmic oscillations is distributed in the lumbosacral spinal cord of the cat. // *Exp. Brain. Res.* - 1983. - V. 53. - P. 81-90.
104. Delwaide P.J., Crenna P. Exteroceptive influences on lower limb motoneurons in man: spinal and supraspinal contributions. // *Adv. Neurol.* - 1983. - V. 39. - P. 797-807.
105. Dietz V., Colombo G., Jensen L. Locomotor activity in spinal man. // *Lancet.* - 1994. - V. 344, N8932. - P. 1260-1263.
106. Dimitrijevic M., Gerasimenko Yu., Pinter M. Evidence for a spinal central pattern generator in humans. // *Ann. NY Acad. Sci.* - 1988. - V. 860 - P. 360-376.
107. Dimitrijevic M.R., Faganel J. Motor control in the spinal cord. // *Recent Achievements in Restorative Neurology. 1. Upper Motor Neuron Functions and Dysfunctions.* - 1985. - P. 150-162.
108. Duysens J. Reflex control of locomotion as revealed by stimulation of cutaneous afferents in spontaneously walking premammillary cats. // *J. Neurophysiol.* - 1977. - V. 40, N4. - P. 737-751.
109. Duysens J., Clarac F., Cruse H. Load-Regulating Mechanisms in Gait and Posture: Comparative Aspects. // *Physiol. Rev.* - 2000. - V. 80. - P. 83-133.
110. Duysens J., Pearson K.G. The role of cutaneous afferents from the distal hindlimb in the regulation of the step cycle of thalamic cats. // *Exp. Brain Res.* - 1976. - V. 24. - P. 245-255.
111. Duysens J., Stein R.B. Reflexes induced by nerve stimulation in walking cats with implanted nerve cuff electrodes. // *Exp. Brain. Res.* - 1978. - V. 32. - P. 213-224.
112. Dy C., Gerasimenko Y., Edgerton V.R., Dyhre-Poulsen P., Courtine G., Harkema S., Phase dependent modulation of percutaneously elicited

multisegmental muscle responses after spinal cord injury. // J. Neurophysiol. – 2010. – V. 103, N5. – P. 2808-2820.

113. Dyhre-Poulsen P., Dy C.J., Courtine G., Harkema S., Gerasimenko Y.P. Modulation of multisegmental monosynaptic reflexes recorded from leg muscles during walking and running in human subjects. // Gait Posture. - 2005. – V. 21. - S66.

114. Edgerton V.R., De Leon R.D., Tillakaratne N., Recktenwald M.R., Hodgson J.A., Roy R.R. Use-dependent plasticity in spinal stepping and standing. // Adv. Neurol. - 1996. – V. 72. P. 233-247.

115. Edgerton V.R., Kim S.J., Ichiyama R.M., Gerasimenko Y.P., Roy R.R. Rehabilitative therapies after spinal cord injury. // J. Neurotrauma. - 2006. – V. 23, N3 – P. 560-570.

116. Engsberg J.R., Ross S.A., Olree K.S., Park T.S. Ankle spasticity and strength in children with spastic diplegic cerebral palsy. // Dev. Med. Child Neurol. – 2000. – V. 42, N1. – P. 42-47.

117. Feraboli-Lohnherr D., Barthe J.Y., Orsal D. Serotonin-induced activation of the network for locomotion in adult spinal rats. // J. Neurosci. Res. - 1999. – V. 55. – P. 87–98.

118. Feraboli-Lohnherr D., Barthe J.Y., Orsal D. Serotonin-induced activation of the network for locomotion in adult spinal rats. // J. Neurosci. Res. – 1999. – V. 55, N1. – P. 87–98.

119. Filloux F.M. Neuropathophysiology of movement disorders in cerebral palsy. //J. Child Neurol. – 1996. – V. 11, N1, suppl. – P. S5-S12.

120. Fong A.J., Cai L.L., Otoshi C.K., Reinkensmeyer D.J., Burdick J.W., Roy R.R., Edgerton V.R. Spinal cord-transected mice learn to step in response to quipazine treatment and robotic training. // J. Neurosc. – 2005. – V. 25, N50. – P. 11738–11747.

121. Forssberg H. Stumbling corrective reaction: A phase dependent compensatory reaction during locomotion. // J. Neurophysiol. – 1979. – V. 42. – P. 936-953.

122. Forssberg H., Grillner S. The locomotion of the acute spinal cat injected with clonidine i.v. // Brain Res. – 1973. – V. 50. – P. 184-186.
123. Forssberg H., Grillner S., Rossignol S. Phasic gain control of reflexes from the dorsum of the paw during spinal locomotion. // Brain Res. – 1977. – V. 132. – P. 121-139.
124. Fouad K., Metz G.A., Merkler D., Dietz V., Schwab M.E. Treadmill training in incomplete spinal cord injured rats. // Behav. Brain Res. – 2000. – V. 115, N1. – P. 107-113.
125. Fuxe K. Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. // Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. – 1965. – V. 65, N4. – P. 573-596.
126. Gerasimenko Y., Daniel O., Regnaux J., Combeaud M., Bussel B. Mechanisms of locomotor activity generation under epidural spinal cord stimulation. // NATO science series sub series. I. life and behavioural sciences. – 2001. – V. 326. – P. 164-171.
127. Gerasimenko Y., Gorodnichev R., Machueva E., Pivovarova E., Semyenov D., Savochin A., Roy R.R., Edgerton V.R. Novel and direct access to the human locomotor spinal circuitry. // J. Neurosci. – 2010. – V. 30, N10. – P. 3700-3708.
128. Gerasimenko Y., Lavrov I., Courtine G., Ichiyama R.M., Dy C.J., Zhong H., Roy R.R., Edgerton V.R. Spinal cord reflexes induced by epidural spinal cord stimulation in normal awake rats. // J. Neurosci. Meth. - 2006. - V. 157, N2. - P. 253-263.
129. Gerasimenko Y., Musienko P., Bogacheva I., Moshonkina T., Savochin A., Lavrov I., Roy R.R., Edgerton V.R. Propriospinal bypass of the serotonergic system that can facilitate stepping. // J. Neurosci. – 2009. – V. 29, N17. – P. 5681-5689.
130. Gerasimenko Y., Roy R.R., Edgerton V.R. Epidural stimulation: Comparison of spinal circuits that generate and control locomotion in rats, cats and humans. // Exp. Neurol. - 2008. - V. 209. - P. 417-425.

131. Gerasimenko Y.P., Gad P., Sayenko D.G., McKinney Z., Gorodnichev R., Puhov A., Moshonkina T., Savochin A., Selionov V.A., Shigueva T., Tomilovskaya E., Kozlovskaya I.B., Edgerton V.R. Integration of sensory, spinal, and volitional descending inputs in regulation of human locomotion. // J. Neurophysiol. – 2016. – V. 116, N1. – P. 98-105.
132. Gerasimenko Y.P., Gorodnichev R., Puhov A., Moshonkina T., Savochin A., Selionov V.A., Edgerton V.R. Initiation and modulation of locomotor circuitry output with multi-site transcutaneous electrical stimulation of the spinal cord in non-injured humans. // J. Neurophysiol. – 2015. – V. 113. – P. 834-842.
133. Gerasimenko Y.P., Ichiyama R.M., Lavrov I.A., Courtine G., Cai L., Zhong H., Roy R.R., Edgerton V.R. Epidural spinal cord stimulation plus quipazine administration enable stepping in complete spinal adult rats. // J. Neurophysiol. – 2007. – V. 98, N5. – P. 2525–2536.
134. Gerasimenko Y.P., Lu D.C., Modaber M., Zdunowski S., Gad P., Sayenko D.G., Morikawa E., Haakana P., Ferguson A.R., Roy R.R., Edgerton V.R. Noninvasive reactivation of motor descending control after paralysis. // J. Neurotrauma. - 2015. - V. 32, N24. – P. 1968-1980.
135. Gerasimenko Yu., Garbuz A., Makarovsky A., Shapkov Yu. Effects of spinal cord stimulation on posture and gait in spinal patients. / In Posture and gait: control mechanisms, 1992. – P. 372-375.
136. Gerasimenko Yu.P., Makarovsky A.N. Neurophysiological evaluation of the effects of spinal cord stimulation in spinal patients. / In Motor Control VII, 1996. – P.153-157.
137. Gharakhanlou R., Chadan S., Gardiner P. Increased activity in the form of endurance training increases calcitonin gene-related peptide content in lumbar motoneuron cell bodies and in sciatic nerve in the rat. // Neurosci. – 1999. – V. 89, N4. – P. 1229-1239.
138. Gossard J.P., Brownstone R.M., Barajon I., Hultborn H. Transmission in locomotor-related group Ib pathway from hindlimb extensor muscles in the cat. // Expl. Brain. Res. – 1994. – V. 98 – P. 213-228.

139. Grillner S. Control of locomotion in bipeds, tetrapods and fish. // In: Handbook of Physiology. Sect 1, Vol. 2. The Nervous System, Motor Control. 1981. - P.1179-1236.
140. Grillner S. Locomotion in vertebrates: central mechanisms and reflex interaction. // Physiol Rev. – 1975. – V. 55, N2. – P. 247-304.
141. Grillner S., Rossignol S. On the initiation of the swing phase of locomotion in chronic spinal cats. // Brain Res. – 1978. – V. 146. – P. 269 –277.
142. Grillner S., Wallén P. Central pattern generators for locomotion, with special reference to vertebrates. // Annu. Rev. Neurosci. – 1985. - V. 8. - P. 233–261.
143. Guevremont L., Renzi C.G., Norton J.A., Kowalczewski J., Saigal R., Mushahwar V.K. Locomotor-related networks in the lumbosacral enlargement of the adult spinal cat: activation through intraspinal microstimulation. // IEEE Trans. Neural. Syst. Rehabil. Eng. - 2006. – V. 14. - P. 266–272.
144. Hallett M. Transcranial magnetic stimulation and the human brain. // Nature. - 2000. - V. 406. – P. 147.
145. Handwerker H.O., Kilo S., Reeh P.W. Unresponsive afferent nerve fibres in the sural nerve of the rat. // J. Physiol. – 1991. – V. 435. – P. 229-242.
146. Hanna S.E., Bartlett D.J., Rivard L.M., Russell D.J. Reference curves for the Gross Motor Function Measure: percentiles for clinical description and tracking over time among children with cerebral palsy. // Phys. Ther. – 2008. – V. 88, N5 – P. 596-607.
147. Harkema S., Gerasimenko Y., Hodes J., Burdick J., Angeli C., Chen Y., Ferreira C., Willhite A., Rejc E., Grossman R.G., Edgerton V.R. Effect of epidural stimulation of the lumbosacral spinal cord on voluntary movement, standing, and assisted stepping after motor complete paraplegia: a case study. // Lancet. - 2011. – V. 377. – P. 1938–1947.
148. Hentall I.D., Fields H.I. Actions of opiates, substance P, and serotonin on the excitability of primary afferent terminals and observations on

interneuronal activity in the neonatal rat's dorsal horn in vitro. // Neurosci. – 1983. – V. 9. – P. 521–528.

149. Hofstoetter U.S., Hofer C., Kern H., Danner S.M., Mayr W., Dimitrijevic M.R., Minassian K. Effects of transcutaneous spinal cord stimulation on voluntary locomotor activity in an incomplete spinal cord injured individual. // Biomed. Tech. (Berl). - 2013. - V. 58, Suppl.1. - DOI 10.1515/bmt-2013-4014

150. Holsheimer J. Computer modelling of spinal cord stimulation and its contribution to therapeutic efficacy. // Spinal cord. – 1998. V. 36, N8. - P. 531-540.

151. Hunter J.P., Ashby P. Segmental effects of epidural spinal cord stimulation in humans. // J. Physiol. – 1994. – V. 474, N3. – P. 407-419.

152. Ichiyama R.M., Gerasimenko Y., Jindrich D.L., Zhong H., Roy R.R., Edgerton V.R. Dose dependence of the 5-HT agonist quipazine in facilitating spinal stepping in the rat with epidural stimulation. // Neurosci. Lett. – 2008. – V. 438, N3. - P.281-285.

153. Ichiyama R.M., Gerasimenko Y.P., Zhong H., Roy R.R., Edgerton V.R. Hindlimb stepping movements in complete spinal rats induced by epidural spinal cord stimulation. // Neurosci. Lett. - 2005. - V. 383. - P. 339-344.

154. Ivanenko Y.P., Grasso R., Lacquaniti F. Neck muscle vibration makes walking humans accelerate in the direction of gaze. // J. Physiol. – 2000. – V. 525, Pt 3. – P. 803–814.

155. Iwahara T., Atsuta Y., Garcia-Rill E., Skinner R.D. Spinal cord stimulation induced locomotion in the adult cat. // Brain Res. Bull. – 1991. – V. 28. - P.99–105.

156. Janjua M.Z., Leong S.K. Organization of neurons forming the femoral, sciatic, common peroneal and tibial nerves in rats and monkeys. // Brain Res. - 1984. – V. 310, N2. – P. 311-323.

157. Jankowska E. Identification of interneurones interposed in different spinal reflex pathways. // In: Materials of the Golgi Centennial Symposium/Ed. by D.Purpura, M.Santini. New York: Raven press, 1975. – P. 235-246.

158. Jankowska E., Jukes M., Lund S., Lundberg A. The effect of DOPA on the spinal cord. V. Reciprocal organization of pathways transmitting excitatory action to alpha motoneurones of flexors and extensors. // Acta Physiol. Scand. – 1968. – V. 70, N3-4. P. 369–388.
159. Jankowska E., Maxwell D. J., Dolk S., Dahlstrom A. A confocal and electron microscopic study of contacts between dorsal horn interneurons in pathways from muscle afferents. // J. Comp. Neurol. – 1997. – V. 387. P. 430–438.
160. Juvin L., Le Gal J.P., Simmers J., Morin D. Cervicolumbar coordination in mammalian quadrupedal locomotion: role of spinal thoracic circuitry and limb sensory inputs. // J. Neurosci. - 2012. – V. 32. – P. 953–965.
161. Juvin L., Simmers J., Morin D. Propriospinal circuitry underlying interlimb coordination in mammalian quadrupedal locomotion. // J. Neurosci. - 2005. – V. 25. – P. 6025–6035.
162. Kagamihara Y., Hayashi A., Masakado Y., Kouno Y. Long-loop reflex from arm afferents to remote muscles in normal man. // Exp. Brain Res. - 2003. – V. 151. – P. 136–144.
163. Kendall F.P., McCreary E.K., Provance P.G. Muscles, testing and function: with posture and pain. / Baltimore: Md.: Williams & Wilkins, 1993.
164. Kiehn O, Kjærulff O. Spatiotemporal characteristics of 5-HT and dopamine-induced rhythmic hindlimb activity in the in vitro neonatal rat. // J. Neurophysiol. - 1996. – V. 75. – P. 1472–1482.
165. Kiehn O. Locomotor circuits in the mammalian spinal cord. // Annu. Rev. Neurosci. – 2006. – V. 29. – P. 279–306.
166. Kjaerulff O., Barajon I., Kiehn O. Sulphorhodamine-labelled cells in the neonatal rat spinal cord following chemically induced locomotor activity in vitro. // J. Physiol. – 1994. – V. 478, Pt 2. – P. 265–273.
167. Kokotilo K.J., Eng J.J., Curt A. Reorganization and preservation of motor control of the brain in spinal cord injury: a systematic review. // J. Neurotr. – 2009. – V. 26, N11. – P. 2113–2126.

168. Kriellaars D.J., Brownstone R.M., Noga B.R., Jordan L.M. Mechanical entrainment of fictive locomotion in the decerebrate cat. // J. Neurophysiol. - 1994. – V. 71, N6. – P. 2074-2086.
169. Kuhn R.A. Functional capacity of the isolated human spinal cord. // Brain. - 1950. – V. 73. – P. 1-51.
170. Langlet C., Leblond H., Rossignol S. Mid-lumbar segments are needed for the expression of locomotion in chronic spinal cats. // J. Neurophysiol. - 2005. - V. 93. - P. 2474–2488.
171. Lavrov I., Gerasimenko Y.P., Ichiyama R.M., Courtine G., Zhong H., Roy R.R., Edgerton V.R. Plasticity of spinal cord reflexes after a complete transection in adult rats: relationship to stepping ability. // J. Neurophysiol. - 2006. – V. 96. - P. 1699–1710.
172. Lazorthes Y., Verdie J.-C. Spinal cord stimulation for neuropathic pain. // In: Handbook of Clinical Neurology, 2005. - P. 121-153.
173. Leo R.J. Movement disorders associated with the serotonin selective reuptake inhibitors. // J. Clin. Psychiatry. – 1996. – V. 57, N10. – P. 449-454.
174. Li W., Szczecinski N.S., Hunt A.J., Quinn R.D. A neural network with central pattern generators entrained by sensory feedback controls walking of a bipedal model. // In: Biomimetic and biohybrid systems: 5th International conference, living machines 2016. Edinburgh: Springer, 2016. – P. 144.
175. Lloyd D.P. Mediation of descending long spinal reflex activity. // J. Neurophysiol. - 1942. – V. 5. - P. 435–458.
176. Loane C., Politis M. Buspirone: what is it all about? // Brain Res. – 2012. – V. 1461. – P. 111-118.
177. Long-Sun R. Neuropathic pain: mechanisms and treatments. // Chang. Gung. Med. J. – 2005. – V. 28. – P. 597-605.
178. Lopez-Garcia J.A., King A.E. A novel methodology for simultaneous assessment of the effects of 5-hydroxytryptamine on primary afferent polarization and synaptic transmission in rat dorsal horn neurones in vitro. // J. Neurosc. Meth. – 1996. – V. 68. – P. 1– 6.

179. Lu D.C., Edgerton V.R., Modaber M., AuYong N., Morikawa E., Zdunowski S., Sarino M.E., Sarrafzadeh M., Nuwer M.R., Roy R.R., Gerasimenko Y. Engaging cervical spinal cord networks to reenable volitional control of hand function in tetraplegic patients. // *Neurorehabil. Neural Repair* – 2016. – V. 30, N10. – P. 951-962.
180. Lundberg A. Multisensory control of spinal reflex pathways. // *Prog. Brain Res.* – 1979. – V. 50. – P. 11-28.
181. Mao C.C., Ashby P., Wang M., McCrea D. Synaptic connections from large muscle afferents to the motoneurons of various leg muscles in man // *Exp. Brain Res.* - 1984. - V. 56. P. - 341-350.
182. Marques M. R., Stigger F., Segabinazi E., Augustin O.A., Barbosa S., Piazzaa F.V., Achaval M., Marcuzzo S. Beneficial effects of early environmental enrichment on motor development and spinal cord plasticity in a rat model of cerebral palsy. // *Behav. Brain Res.* – 2014. – V. 263. – P. 149-157.
183. McCormick B.A. Ankle blocks. // *Updates in Anaesthesia*. - 1999. – V. 10. – P. 66-69.
184. McCrea D.A., Rybak I.A. Organization of mammalian locomotor rhythm and pattern generation. // *Brain Res. Rev.* - 2008. – V. 57, N1. – P. 134-146.
185. McKerracher L., Doucet G., Rossignol S. Propriospinal neurons involved in the control of locomotion: potential targets for repair strategies? // *Spinal Cord Trauma: Regeneration, Neural Repair and Functional Recovery*. – 2002. – P.125.
186. Meglio M., Cioni B., Dal Lago A. Pain control and improvement of peripheral blood flow following epidural spinal cord stimulation. // *J. Neurosurg.* – 1981. – V. 54, N 6. - P. 821-823.
187. Meinck H.M., Piesiur-Strehlow B. Reflexes evoked in leg muscles from arm afferents: a propriospinal pathway in man? // *Exp. Brain Res.* - 1981. – V. 43. – P. 78–86.

188. Mello L.F.D., Nóbrega L.F., Lemos A. Transcutaneous electrical stimulation for pain relief during labor: a systematic review and meta-analysis. // Rev. Bras. Fisioter. – 2011. – V. 15, N3. – P. 175-184.
189. Menétrey D., De Pommery J., Roudier F. Propriospinal fibers reaching the lumbar enlargement in the rat. // Neurosci. Lett. – 1985. – V. 58. – P. 257–261.
190. Miller K.E., Douglas V.D., Richards A.B., Chandler M.J., Foreman R.D. Propriospinal neurons in the C1–C2 spinal segments project to the L5-S1 segments of the rat spinal cord. // Brain Res. Bull. - 1998. – V. 47. – P. 43–47.
191. Minassian K., Hofstoetter U.S., Danner S.M., Mayr W., McKay W.B., Tansey K., Dimitrijevic M.R. Mechanisms of rhythm generation of the human lumbar spinal cord in response to tonic stimulation without and with step-related sensory feedback. // Biomed. Tech. (Berl). - 2013. - V. 58, Suppl. 1. – DOI 10.1515/bmt-2013-4013
192. Minassian K., Persy I., Rattay F., Pinter M. M., Kern H., Dimitrijevic M.R. Human lumbar cord circuitries can be activated by extrinsic tonic input to generate locomotor like activity. // Human Mov. Sci. - 2007. - V. 26. - P. 275-295.
193. Mori S., Matsuyama K., Kohhyama J., Kobayashi Y., Takakusaki K. Neuronal constituents of postural and locomotion control systems and their interactions in cat. // Brain Dev. – 1992. – Vol. 14. – P. S109-S120.
194. Moshonkina T., Avelev V., Gerasimenko Yu., Mathur R., Bijlani R.L. Treadmill training accelerates restoration of locomotion after complete spinal cord transection in the rat. // Indian J. Physiol. Pharmacol. - 2002. - V. 46, N4. - P. 499-503.
195. Musienko P., van den Brand R., Marzendorfer O., Roy R.R., Gerasimenko Y., Edgerton V.R., Courtine G. Controlling specific locomotor behaviors through multidimensional monoaminergic modulation of spinal circuitries. // J. Neurosci. – 2011. – V. 31, N25. P. 9264–9278.
196. Nandra M.S., Lavrov I.A., Edgerton V.R., Tai Y.C. A parylene-based microelectrode array implant for spinal cord stimulation in rats. // Micro Electro

Mechanical Systems (MEMS), 2011 IEEE 24th International Conference on. – IEEE. – 2011. – P. 1007-1010.

197. Newton B.W., Hamill R.W. The morphology and distribution of rat serotonergic intraspinal neurons: an immunohistochemical study. // Brain Res. Bull. – 1988. – V. 20, N3. – P. 349-360.
198. Noble J.J. Musculoskeletal and spinal cord imaging in bilateral spastic cerebral palsy: дис. – King's College London, 2014.
199. Orlovsky G.N., Deliagina T.G., Grillner S. Neuronal control of locomotion. // In: From mollusc to man. Oxford University Press, Oxford; 1999.
200. Palisano R., Rosenbaum P., Walter S., Russel S., Wood E., Galuppi B. Development and reliability of a system to classify gross motor function in children with cerebral palsy. // Dev. Med. Child Neurol. – 1997. – V. 39, N4. P. 214-223.
201. Parent A. Functional anatomy and evolution of monoaminergic systems. // Am. Zool. – 1984. – V. 24, N3. – P. 783-790.
202. Pearson K.G., Rossignol S. Fictive motor patterns in chronic spinal cats. // J. Neurophysiol. – 1991. – V. 66. – P. 1874-1887.
203. Prochazka A., Sontag K.H. Wand P. Motor reactions to perturbations of gait: proprioceptive and somesthetic involvement. // Neurosci. Lett. – 1978. – V. 7. – P. 35-39.
204. Ridet J.L., Tamir H., Privat A. Direct immunocytochemical localization of 5-hydroxytryptamine receptors in the adult rat spinal cord: A light and electron microscopic study using an anti-idiotypic antiserum. // J. Neurosci. Res. – 1994. – V. 38, N1. – P. 109-121.
205. Rossignol S. Neuronal control of stereotyped limb movements // In: Handbook of physiology. NY: Oxford University Press. 1996. - P.173-216.
206. Rossignol S., Chau C., Brustein E., Giroux N., Bouyer L., Barbeau H., Reader T.A. Pharmacological activation and modulation of the central pattern generator for locomotion in the cat. // Ann. NY Acad. Sci. – 1998. – V. 860, N16. P. 346–359.

207. Rossignol S., Chau C., Giroux N., Brustein E., Bouyer L., Marcoux J., Langlet C., Barthelemy D., Provencher J., Leblond H., Barbeau H., Reader T.A. The cat model of spinal injury. // *Prog. Brain Res.* – 2002. – V. 137. – P. 151-168.
208. Russell D.J., Rosenbaum P.L., Cadman D.T., Gowland C., Hardy S., Jarvis S. The gross motor function measure: a means to evaluate the effects of physical therapy. // *Dev. Med. Child Neurol.* – 1989. – V. 31, N3. P. 341-352.
209. Sayenko D.G., Atkinson D.A., Dy C.J., Gurley K.M., Smith V.L., Angeli C., Harkema S.J., Edgerton V. R., Gerasimenko Y.P. Spinal segment-specific transcutaneous stimulation differentially shapes activation pattern among motor pools in humans. // *J. Appl. Physiol.* – 2015. V. 118, N11. – P. 1364-1374.
210. Schmidt B.J., Jordan L.M. The role of serotonin in reflex modulation and locomotor rhythm production in the mammalian spinal cord. // *Brain Res. Bull.* – 2000. – V. 53, N5. – P. 689-710.
211. Schomburg E.D., Meinck H.M., Haustein J., Roesler J. Functional organization of the spinal reflex pathways from forelimb afferents to hindlimb motoneurones in the cat. // *Brain Res.* - 1978. – V. 139. - P. 21–33.
212. Sedan R., Bourhis A., Regis H. La stimulation électrique du cone medullaire dans les vessies neurologiques. // *Neurochirurgie.* - 1974. – V. 20, N2. – P. 93-116.
213. Selionov V.A., Ivanenko Y.P., Solopova I.A., Gurfinkel V.S. Tonic central and sensory stimuli facilitate involuntary air stepping in humans. // *J. Neurophysiol.* – 2009. – V. 101. – P. 2847-2858.
214. Shah P., Sureddi S., Alam M., Zhong H., Roy R.R., Edgerton V.R., Gerasimenko Y. Unique spatiotemporal neuromodulation of the lumbosacral circuitry shapes locomotor success after spinal cord injury. // *J. Neurotrauma.* – 2016. – V. 33, N18. P. 1709-1723.
215. Shah P.K., Garcia-Alias G., Choe J., Gad P., Gerasimenko Y., Tillakaratne N., Zhong H., Roy R.R., Edgerton V.R. Use of quadrupedal step training to re-engage spinal interneuronal networks and improve locomotor function after spinal cord injury // *Brain.* – 2013. – V. 136. – P. 3362–3377.

216. Shapkova E.Y., Schomburg E.D Two types of motor modulation underlying human stepping evoked by spinal cord electrical stimulation (SCES). // Acta Physiol. Pharmacol. Bulg. – 2000. – V. 26, N3. – P. 155-157.
217. Shapovalov A.I. Neuronal organization and synaptic mechanisms of supraspinal motor control in vertebrates. // Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. – 1975. – V. 72. – P. 1-54.
218. Sharrard W.J. The distribution of the permanent paralysis in the lower limb in poliomyelitis; a clinical and pathological study. // J. Bone Joint Surg. Br. – 1955. – V. 37-B. P. 540–558.
219. Shealy C.N., Mortimer J.T., Reswick J.B. Electrical inhibition of pain by stimulation of the dorsal columns: Preliminary clinical report. // Anesth. Analg. Cleveland. – 1967. – V. 46. – P. 489-491.
220. Sherrington C.S. Flexion-reflex of the limb, crossed extension-reflex, and reflex stepping and standing. // J. Physiol. – 1910. – V. 40. – P. 28-121.
221. Sherrington C.S. The integrative action of the nervous system. // London: New Haven Yale Univ. Press, 1906.
222. Shik M.L. Recognizing propriospinal and reticulospinal systems of initiation of stepping. // Motor Control. – 1997. – V. 1. – P. 310-313.
223. Shimoji K., Shimizu H., Maruyama Y., Matsuki M., Kurirayashi H., Rjioka H. Dorsal column stimulation in man: facilitation of primary afferent depolarization. // Anesth. Analg. – 1982. V. 61. – P. 410-413.
224. Siegfried J. Neurostimulation methods for correcting functional imbalances. // In: Principles and Practice of Restorative Neurology. Oxford, 1992. – P. 166-176.
225. Sławińska U., Miazga K., Jordan L.M. 5-HT₂ and 5-HT₇ receptor agonists facilitate plantar stepping in chronic spinal rats through actions on different populations of spinal neurons. // Front. Neural Circuits. – 2014. – V. 8. – P. 95.
226. Solopova I.A., Sukhotina I.A., Zhvansky D.S., Ikoeva G.A., Vissarionov S.V., Baindurashvili A.G., Edgerton V.R., Gerasimenko Y.,

- Moshonkina T.R. Effects of spinal cord stimulation on motor functions in children with cerebral palsy. // *Neurosci. Lett.* – 2017. – V. 639. – P. 192–198.
227. Sorensen K.L., Hollands M.A., Patla A.E. The effects of human ankle muscle vibration on posture and balance during adaptive locomotion. // *Exp. Brain Res.* – 2002. – V. 143. – P. 24-34.
228. Sqalli-Houssaini Y, Cazalets J-R, Clarac F. Oscillatory properties of the central pattern generator for locomotion in neonatal rats. // *J. Neurophysiol.* – 1993. – V. 70. – P. 803–813.
229. Sramek J.J., Hong W.W., Hamid S., Nape B., Cutler N.R. Meta-analysis of the safety and tolerability of two dose regimens of buspirone in patients with persistent anxiety. // *Depression Anxiety.* – 1999. – V. 9, N3. – P. 131-134.
230. Stackhouse S. ., Binder-Macleod S. ., Lee S.C. Voluntary muscle activation, contractile properties, and fatigability in children with and without cerebral palsy. // *Muscle Nerve.* – 2005. – V. 31, N5. – P. 594- 601.
231. Stein P.S.G. Motor systems, with specific reference to the control of locomotion. // *Annu. Rev. Neurosci.* – 1978. – V. 1. – P. 61-81.
232. Struijk J.J., Holsheimer J., Boom H.B.K. Excitation of dorsal root fibers in spinal cord stimulation: a theoretical study. // *IEEE Trans. Biomed. Engin.* - 1993. - V. 40, N7. – P. 632-639.
233. Sylos-Labini F., Ivanenko Y.P., MacLellan M.J., Cappellini G., Poppele R.E., Lacquaniti F. Locomotor-like leg movements evoked by rhythmic arm movements in humans. // *PLoS One.* - 2014. – V. 9. - e90775.
234. Tallis R., Illis L., Sedgwick E. The quantitative assessment of the influence of spinal cord stimulation on motor function in patients with multiple sclerosis. // *Disabil. Rehabil.* – 1983. – V. 5, N1. – P. 10-16.
235. Troni W., Bianco C., Moja M.C., Dotta M. Improved methodology for lumbosacral nerve root stimulation. // *Muscle Nerve.* - 1996. - V. 19, N5. – P. 595-604.

236. Unnithan V.B., Dowling J.J., Frost G., Volpe Ayub B., Bar-Or O., Cocontraction and phasic activity during gait in children with cerebral palsy. // Electromyogr. Clin. Neurophysiol. – 1996. – V. 36. - P. 487–494.
237. van den Brand R., Heutschi J., Barraud Q., DiGiovanna J., Bartholdi K., Huerlimann M., Friedli L., Vollenweider I., Moraud E.M., Duis S., Dominici N., Micera S, Musienko P., Courtine G. Restoring voluntary control of locomotion after paralyzing spinal cord injury. // Science. – 2012. V. 336, N6085. – P.1182-1185.
238. Vejsada R., Hnik P. Radicular innervation of hindlimb muscles of the rat. // Physiologia Bohemoslovaca. – 1979. – V. 29, N 5. – P. 385-392.
239. Verschueren S.M.P., Swinnen S.P., Desloovere K., Duysens J. Effects of tendon vibration on the spatiotemporal characteristics of human locomotion. // Exp. Brain Res. – 2002. – V. 143. – P. 231-239.
240. Viala D., Buser P. The effects of DOPA and 5-HTP on rhythmic efferent discharges in hind limb nerves in the rabbit. // Brain Res. - 1969. – V. 12. – P. 437–443.
241. Ward A.R. Electrical stimulation using kilohertz-frequency alternating current. // Phys. Ther. - 2009. – V. 89. – P. 181-190.
242. Ward A.R., Shkuratova N. Russian electrical stimulation: the early experiments. // Phys. Ther. - 2002. – V. 82. – P. 1019-1030.
243. Wenger N., Moraud E.M., Gandar J., Musienko P., Capogrosso M., Baud L., Goff C.GL., Barraud Q., Pavlova N., Dominici N., Minev I.R, Asboth L., Hirsch A., Duis S., Kreider J., Mortera A., Haverbeck O., Kraus S., Schmitz F., DiGiovanna J., van den Brand R., Bloch J., Detemple P., Lacour S.P., Bézard E., Micera S., Courtine G. Spatiotemporal neuromodulation therapies engaging muscle synergies improve motor control after spinal cord injury. // Nat. Med. – 2016. – V. 22, N2. – P. 138-145.
244. Whelan P.J. Control of locomotion in the decerebrate cat. // Progr. Neurobiol. – 1996. – V. 49. – P. 481-515.

245. Willhite A. M., Gerasimenko Y. P., Ferreira C. K., Aslan S., Angeli C. A., Edgerton V. R., Harkema S. J. Features of EMG activity in leg muscles induced by epidural stimulation with an array electrode in a human with a motor complete spinal cord injury. // Program No. 276.14/MM4. - Neuroscience Meeting Planner. Washington, DC: Society for Neuroscience, 2011. Online.
246. Winchester P., McColl R., Querry R., Foreman N., Mosby J., Tansey K., Williamson J. Changes in supraspinal activation patterns following robotic locomotor therapy in motor-incomplete spinal cord injury. // Neurorehabil. Neural. Repair. - 2005. - V. 19, N4. - P. 313-324.
247. Wolpert D.M., Kawato M. Multiple paired forward and inverse models for motor control. // Neural Netw. - 1998. - V. 11, N7. - P. 1317-1329.
248. Yamaguchi T. Descending pathways eliciting forelimb stepping in the lateral funiculus: experimental studies with stimulation and lesion of the cervical cord in decerebrate cats. // Brain Res. - 1986. - V. 379. - P. 125–136.
249. Zehr E.P., Duysens J. Regulation of arm and leg movement during human locomotion. // Neuroscientist. - 2004. - V. 10. - P. 347–361.
250. Zehr E.P., Hundza S.R., Vasudevan E.V. The quadrupedal nature of human bipedal locomotion. // Exerc. Sport Sci. Rev. - 2009. - V. 37. - P. 102–108.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1 Метод ВВВ-шкалирования

Процедура. Крыс по одной помещали в открытое поле. Два наблюдателя располагались так, чтобы видеть животное с двух сторон. Наблюдение длилось 4 мин. Если крыса замирала более, чем на 20 сек, ее побуждали к движениям, дотрагиваясь до передней части тела свернутым в трубочку листом бумаги или карандашом.

Шкала. Копии страниц из оригинальной статьи Basso, Beattie, Bresnahan, 1995.

BASSO ET AL.

TABLE 2. THE 21-POINT BASSO, BEATTIE, BRESNAHAN LOCOMOTOR RATING SCALE AND OPERATIONAL DEFINITIONS OF CATEGORIES AND ATTRIBUTES

- | | |
|----|---|
| 0 | No observable hindlimb (HL) movement |
| 1 | Slight movement of one or two joints, usually the hip and/or knee |
| 2 | Extensive movement of one joint
or
extensive movement of one joint <i>and</i> slight movement of one other joint |
| 3 | Extensive movement of two joints |
| 4 | Slight movement of all three joints of the HL |
| 5 | Slight movement of two joints <i>and</i> extensive movement of the third |
| 6 | Extensive movement of two joints <i>and</i> slight movement of the third |
| 7 | Extensive movement of all three joints of the HL |
| 8 | Sweeping with no weight support
or
plantar placement of the paw with no weight support |
| 9 | Plantar placement of the paw with weight support in stance only (i.e., when stationary)
or
occasional, frequent, or consistent weight supported dorsal stepping and no plantar stepping |
| 10 | Occasional weight supported plantar steps, no forelimb (FL)-HL coordination |
| 11 | Frequent to consistent weight supported plantar steps <i>and</i> no FL-HL coordination |
| 12 | Frequent to consistent weight supported plantar steps <i>and</i> occasional FL-HL coordination |
| 13 | Frequent to consistent weight supported plantar steps <i>and</i> frequent FL-HL coordination |
| 14 | Consistent weight supported plantar steps, consistent FL-HL coordination; <i>and</i>
predominant paw position during locomotion is rotated (internally or externally) when it makes
<i>initial contact</i> with the surface as well as just before it is <i>lifted off</i> at the end of stance
or
frequent plantar stepping, consistent FL-HL coordination, and occasional dorsal stepping |
| 15 | Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination; <i>and</i>
no toe clearance or occasional toe clearance during forward limb advancement;
predominant paw position is parallel to the body at initial contact |
| 16 | Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination during gait; <i>and</i>
toe clearance occurs frequently during forward limb advancement;
predominant paw position is parallel at initial contact and rotated at lift off |
| 17 | Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination during gait; <i>and</i>
toe clearance occurs frequently during forward limb advancement;
predominant paw position is parallel at initial contact <i>and</i> lift off |
| 18 | Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination during gait; <i>and</i>
toe clearance occurs consistently during forward limb advancement;
predominant paw position is parallel at initial contact and rotated at lift off |
| 19 | Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination during gait; <i>and</i>
toe clearance occurs consistently during forward limb advancement;
predominant paw position is parallel at initial contact <i>and</i> lift off; and
tail is down part or all of the time |
| 20 | Consistent plantar stepping and consistent coordinated gait; consistent toe clearance;
predominant paw position is parallel at initial contact and lift off; tail consistently up;
<i>and</i> trunk instability |
| 21 | Consistent plantar stepping and coordinated gait, consistent toe clearance, predominant paw
position is parallel throughout stance, consistent trunk stability, tail consistently up |

Definitions

Slight: partial joint movement through less than half the range of joint motion

Extensive: movement through more than half of the range of joint motion

Sweeping: rhythmic movement of HL in which all three joints are extended, then fully flex and extend again; animal is usually sidelying, the plantar surface of paw may or may not contact the ground; no weight support across the HL is evident

No Weight Support: no contraction of the extensor muscles of the HL during plantar placement of the paw; or no elevation of the hindquarters

Weight Support: contraction of the extensor muscles of the HL during plantar placement of the paw, or elevation of the hindquarter

Plantar Stepping: The paw is in *plantar* contact with weight support then the HL is advanced forward and *plantar* contact with weight support is reestablished

Dorsal Stepping: weight is supported through the dorsal surface of the paw at some point in the step cycle

FL-HL Coordination: for every FL step an HL step is taken and the HLs alternate

Occasional: less than or equal to half; ≤50%

Frequent: more than half but not always; 51–94%

Consistent: nearly always or always; 95–100%

Trunk Instability: lateral weight shifts that cause waddling from side to side or a partial collapse of the trunk

ПРИЛОЖЕНИЕ 2 Список использованных в тексте сокращений

8-ОНДРАТ	8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)-tetralin
ASIA	American Spinal Injury Association
БВВ -баллы	баллы БВВ-шкалы
БВВ -шкала	Basso, Beattie, Bresnahan Locomotor Rating Scale, описана в работе Basso et al., 1995
CES-D	Center for Epidemiological Studies-Depression
GMFCS	Gross Motor Function Classification System for Cerebral Palsy
GMFM-88	Gross Motor Function Measure
L-DOPA	L-3,4-dihydroxyphenylalanine
MRC	Medical Research Council
Бдр	тазобедренный сустав
ГАМК	гамма-аминомасляная кислота
Глн	голеностопный сустав
Днрв	денервированные крысы с интактным спинным мозгом
Днрв-Сп	денервированные-спинализированные крысы
ДЦП	детский церебральный паралич
Инт	крысы с интактным спинным мозгом
Клн	коленный сустав
КОР	компенсатор опорной разгрузки
об.	объектив микроскопа
ок.	окуляр микроскопа
СОПС	стимуляция опорной поверхности стоп
Сп	спинализированные крысы
Сп-Квип	после перерезки спинного мозга вводили квипазин
Сп-Тр	после перерезки спинного мозга тренировали
Сп-Тр-Квип	после перерезки спинного мозга тренировали, вводили квипазин
ТЭС	транскраниальная электростимуляция
Ув.	увеличение
ЧССМ	чрескожная стимуляция спинного мозга

ПРИЛОЖЕНИЕ 3 Основные публикации по теме диссертации

Публикации в рецензируемых журналах из списка ВАК:

1. Богачева И.Н., **Мошонкина Т.Р.**, Савохин А.А., Щербакова Н.А., Герасименко Ю.П. Эффект чреспокожной электрической стимуляции спинного мозга и механотерапии в регуляции активности мышц ног. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. - 2015. - № 2. - С. 7-17.
2. Богачева И.Н., Мусиенко П.Е., Щербакова Н.А., **Мошонкина Т.Р.**, Савохин А.А., Герасименко Ю.П. Анализ локомоторной активности у децеребрированных кошек при электромагнитной и эпидуральной электрической стимуляции спинного мозга. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2012. - Т. 98, №9. - С. 1079-1093
3. Герасименко Ю.П., **Мошонкина Т.Р.**, Павлова Н.В., Томиловская Е.С., Козловская И.Б. Морффункциональное исследование участия серотонинергической системы в контроле постуральных и локомоторных функций. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2012. - Т. 98, №12. - С. 1595-1603.
4. Герасименко Ю.П., Мусиенко П.Е., **Мошонкина Т.Р.**, Эджертон Р.В. Роль серотонинергической системы в регуляции спинальной локомоции. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. - 2012. – Т. 25. - С. 7-18.
5. Гилерович Е.Г., **Мошонкина Т.Р.**, Павлова Н.В., Отеллин В.А., Герасименко Ю.П. Морффункциональное исследование поврежденного спинного мозга крыс после активации рецепторов серотонина и двигательных нагрузок. // Доклады Академии наук. - 2009. - Т. 428, №3. - С. 413-416.
6. Гилерович Е.Г., **Мошонкина Т.Р.**, Павлова Н.В., Федорова Е.А., Новиков Г.И., Герасименко Ю.П., Отеллин В.А. Морффункциональные

характеристики дистального отдела спинного мозга крыс после его полной экспериментальной перерезки с последующей тренировкой животного на тредбане. // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. - 2008. - Т. 44, №6. - С. 636-643.

7. Гилерович Е.Г., **Мошонкина Т.Р.**, Федорова Е.А., Шишко Т.Т., Павлова Н.В., Герасименко Ю.П., Отеллин В.А. Морфофункциональная характеристика поясничного утолщения спинного мозга крысы. // Морфология. - 2007. - Т. 132, №5. - С. 33-37.

8. Городничев Р.М., Пивоварова Е.А., Пухов А., Моисеев С.А., Савохин А.А., **Мошонкина Т.Р.**, Щербакова Н.А., Килимник В.А., Селионов В.А., Козловская И.Б., Эджертон Р., Герасименко Ю.П. Чрезкожная электрическая стимуляция спинного мозга: неинвазивный способ активации генераторов шагательных движений у человека. // Физиология человека. - 2012. - Т. 38, №2. - С. 46-56.

9. Гришин А.А, **Мошонкина Т.Р.**, Солопова И.А, Городничев Р.М., Герасименко Ю.П. Устройство для неинвазивной электрической стимуляции спинного мозга // Медицинская техника. – 2016. - №5. – С. 8-11.

10. Гришин А.А., Герасименко Ю.П., **Мошонкина Т.Р.**, Павловский В.Е., Платонов А.К., Сербенюк Н.С. Биомехатроника и лечебно-исследовательские тренажеры. Концептуальные и медикобиологические основы. // Мехатроника, автоматизация, управление. - 2012. - № 12. - С. 37-45.

11. **Мошонкина Т.Р.**, Столбков Ю.К., Козловская И.Б., Герасименко Ю.П. Механизмы влияния электростимуляции спинного мозга на вегетативные функции. // Физиология человека. - 2016. - Т. 42, №6. - С. 124–135.

12. **Мошонкина Т.Р.**, Гилерович Е.Г., Федорова Е.А., Авелев В.Д., Герасименко Ю.П., Отеллин В.А. Морфофункциональные основы восстановления локомоторных движений у крыс с полной перерезкой

спинного мозга. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2004. - Т. 138, №8. - С. 225-228.

13. **Мошонкина Т.Р.**, Макаровский А.Н., Богачева И.Н., Щербакова Н.А., Савохин А.А., Герасименко Ю.П. Эффекты электрической стимуляции спинного мозга у пациентов с вертеброспинальной патологией. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2012. - Т. 153, №1. - С. 21-26.

14. **Мошонкина Т.Р.**, Мусиенко П.Е., Богачева И.Н., Щербакова Н.А., Никитин О.А., Савохин А.А., Макаровский А.Н., Городничев Р.М., Герасименко Ю.П. Регуляция локомоторной активности при помощи эпидуральной и чрескожной электрической стимуляции спинного мозга у животных и человека. // Ульяновский медико-биологический журнал. - 2012. - № 3. - С. 129-137.

15. **Мошонкина Т.Р.**, Новиков Г.И., Гилерович Е.Г., Фёдорова Е.А., Герасименко Ю.П. Регуляция двигательной активности у хронически спинализированных крыс. // Российский физиологический журн. им. И.М. Сеченова. - 2004. - Т. 90, № 8. - С. 384-385.

16. **Мошонкина Т.Р.**, Шапкова Е.Ю., Сухотина И.А., Емельянников Д.В., Герасименко Ю.П. Исследование сочетания неинвазивной электрической стимуляции спинного мозга и активации серотониновых рецепторов у пациентов с хроническим поражением спинного мозга. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2016. - Т. 161, №6. - С. 700-705.

17. Никитюк И.Е., **Мошонкина Т.Р.**, Герасименко Ю.П., Виссарионов С.В., Баиндурашвили А.Г. Регуляция баланса у детей с тяжелыми формами ДЦП при реабилитации, включающей чрескожную стимуляцию спинного мозга, функциональную электромиостимуляцию и локомоторные тренировки // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. - 2016. - Т.93, №5. - С. 23-27.

18. Никитюк И.Е., **Мошонкина Т.Р.**, Щербакова Н.А., Виссарионов С.В., Умнов В.В., Рождественский В.Ю., Герасименко Ю.П. Влияние локомоторной тренировки на поддержание вертикальной позы у детей с ДЦП. // Физиология человека. - 2016. - Т. 42, №3. - С. 37–46
19. Новиков Г.И., Павлова Н.В., Зеленкова Н.М., **Мошонкина Т.Р.** Экспериметальная установка «открытое поле» для исследования опорных реакций лабораторных животных. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. - 2011. – Т. 21. - С. 17-24.
20. Солопова И.А., **Мошонкина Т.Р.**, Умнов В.В., Виссарионов С.В., Герасименко Ю.П. Нейрореабилитация пациентов с детским церебральным параличом. // Физиология человека. - 2015. - Т. 41, №4. - С. 123-129.
21. Томиловская Е.С., **Мошонкина Т.Р.**, Городничев Р.М., Шигуева Т.А., Закирова А.З., Пивоварова Е.А., Савохин А.А., Селионов В.А., Семенов Ю.С., Бревнов В.В., Китов В.В., Герасименко Ю.П., Козловская И.Б. Механическая стимуляция опорных зон стоп: неинвазивный способ активации генераторов шагательных движений у человека. // Физиология человека. - 2013. - Т. 39, №5. - С. 34-39.
22. Щербакова Н.А., Богачева И.Н., Зеленкова Н.М., Савохин А.А., **Мошонкина Т.Р.**, Герасименко Ю.П. Исследование рефлекторных ответов мышц задних конечностей наркотизированных крыс на электромагнитную стимуляцию спинного мозга. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. - 2012. – Т. 26. - С. 15-22.
23. Щербакова Н.А., **Мошонкина Т.Р.**, Савохин А.А., Селионов В.А., Городничев Р.М., Герасименко Ю.П. Неинвазивный метод управления спинальными локомоторными сетями человека. // Физиология человека. - 2016. - Т. 42, №1. - С. 73-81.

24. Gerasimenko Y., **Moshonkina T.**, Gorodnichev R., Sayenko D., Gad P., Edgerton R.V. Transcutaneous electrical spinal-cord stimulation in humans. // Ann. Phys. Rehabil. Med. - 2015. – V. 58, N4. – P. 225-231.
25. Gerasimenko Y., Musienko P., Bogacheva I., **Moshonkina T.**, Savochin A., Lavrov I., Roy R.R., Edgerton V.R. Propriospinal bypass of the serotonergic system that can facilitate stepping // J Neurosci. – 2009. – V. 29, N17. – P. 5681-5689.
26. Gerasimenko Y.P., Gorodnichev R., Puhov A., **Moshonkina T.**, Savochin A., Selionov V.A., Edgerton V.R. Initiation and modulation of locomotor circuitry output with multi-site transcutaneous electrical stimulation of the spinal cord in non-injured humans. // J. Neurophysiol. – 2015. – V. 113. – P. 834-842.
27. Gerasimenko YP, Gad P, Sayenko DG, McKinney Z, Gorodnichev R, Puhov A, **Moshonkina T.**, Savochin A, Selionov VA, Shigueva T, Tomilovskaya E, Kozlovskaya IB, Edgerton VR. Integration of sensory, spinal, and volitional descending inputs in regulation of human locomotion. // J. Neurophysiol. – 2016. V. 116, N1. - P. 98-105.
28. Sayenko D.G., Harkema S.J., Edgerton V.R., Gerasimenko Y.P., Atkinson D.A., Floyd T.C., Gorodnichev R.M., **Moshonkina T.R.** Effects of paired transcutaneous electrical stimulation delivered at single and dual sites over lumbosacral spinal cord. // Neurosci. Lett. - 2015. – V. 609. – P. 229-234.

29. Solopova I.A., Sukhotina I.A., Zhvansky D.S., Ikoeva G.A., Vissarionov S.V., Baindurashvili A.G., Edgerton V.R., Gerasimenko Y., **Moshonkina T.R.** Effects of spinal cord stimulation on motor functions in children with cerebral palsy. // Neurosci. Lett. – 2017. – V. 639. – P. 192–198.

Патенты на изобретения

30. Герасименко Ю.П., Городничев Р.М., Авелев В.Д., Щербакова Н.А., Иванов С.М., Мусиенко П.Е., **Мошонкина Т.Р.**, Эджертон Р. Способ стимуляции спинного мозга. – RU 2393885. Дата публикации 03.12.2008
31. Герасименко Ю.П., Городничев Р.М., **Мошонкина Т.Р.**, Савохин А.А., Шупляков В.С., Эджертон Р. Способ накожной

электростимуляции спинного мозга. – RU 2545440. Дата публикации 27.03.2015.

32. Герасименко Ю.П., Городничев Р.М., Щербакова Н.А., **Мошонкина Т.Р.**, Савохин А.А., Килимник В.А., Пивоварова Е.А., Пухов А.М., Козловская И.Б., Эджертон Р. Способ электрической стимуляции спинного мозга. – RU 2471518. Дата публикации 23.03.2011

33. Герасименко Ю.П., Городничев Р.М., **Мошонкина Т.Р.**, Килимник В.А., Эджертон Р. Способ накожной электростимуляции спинного мозга. – RU 2529471. Дата публикации 2014.09.27.

34. Герасименко Ю.П., Мусиенко П.Е., **Мошонкина Т.Р.**, Макаровский А.Н. Способ моделирования и обучения лечению больных с хроническим поражением спинного мозга. – RU 2418319. Дата публикации 21.04.2008

35. Козловская И.Б., Герасименко Ю.П., Городничев Р.М., **Мошонкина Т.Р.**, Томиловская Е.С. Способ активации двигательных функций человека. – RU 2505277. Дата публикации 2014.01.27.

36. **Мошонкина Т.Р.**, Павлова Н.В., Герасименко Ю.П., Малыгин А.В., Лебедев В.П. Способ лечения хронического поражения спинного мозга в эксперименте. – RU 2392016. Дата публикации 27.06.2008

37. Новиков Г.И., **Мошонкина Т.Р.** Открытое поле для лабораторных животных. – RU 89327. Дата публикации 30.06.2009

38. Новиков Г.И., **Мошонкина Т.Р.** Устройство для фиксации мелких лабораторных животных. – RU 86096. Дата публикации 24.02.2009

Глава в монографии

39. **Мошонкина Т.Р.**, Богачева И.Н., Щербакова Н.А., Макаровский А.Н., Герасименко Ю.П. Электрическая стимуляция спинного мозга - эффективный способ регуляции локомоторных функций. Глава в Нейродегенеративные заболевания: от генома до целостного организма // под ред. М.В. Угрюмова. – в 2-х томах - М. Научный мир, 2014. ISBN 978-591522-400-0. Том 1. с. 468-495

Методические рекомендации

40. Баиндурашвили А.Г., Виссарионов С.В., Икоева Г.А., Никитюк И.Е., Кивоенко О.И., Умнов В.В., Рождественский В.Ю., Герасименко Ю.П., Мошонкина Т.Р., Солопова И.А., Сухотина И.А. Методика неинвазивной электрической стимуляции в комплексной реабилитации детей с ДЦП. Пособие для врачей. СПб. ООО «СПб СРП «Павел» ВОГ». – 2016. – 40с.

Список статей, опубликованных по теме диссертации в иных изданиях

41. Авелев В.Д., Мошонкина Т.Р., Матур Р., Богачева И.Н. Электрофизиологическое исследование рефлекторной активности спинного мозга крыс. // Материалы III Международной школы-конференции по физиологии мышц и мышечной деятельности. М., 2005. – С. 37.

42. Богачева И.Н., Мошонкина Т.Р., Макаровский А. Н., Щербакова Н.А., Савохин А.А., Герасименко Ю.П. Эффект одновременной электрической стимуляции двух сегментов спинного мозга у пациентов с вертебро-спинальной патологией. // Материалы IV Всероссийской с международным участием конференции по управлению движением, приуроченной к 90-летнему юбилею кафедры физиологии ФГБОУ ВПО «РГУФКСМиТ» 01 – 03 февраля 2012 г. М., 2012. – С. 30.

43. Богачева И.Н., Мошонкина Т.Р., Савохин А.А., Томиловская Е.С., Козловская И.Б., Герасименко Ю.П. Эффекты стимуляции спинного мозга и опорной поверхности стопы у здоровых испытуемых при разных условиях снятия гравитационной нагрузки // Материалы VI Российской с международным участием конференции по управлению движением «Motor Control – 2016». Казань, 14–16 апреля 2016 г. - С. 25

44. Богачева И.Н., Щербакова Н.А., Мошонкина Т.Р., Савохин А.А., Герасименко Ю.П. Влияние чреспокожной электрической стимуляции спинного мозга на шагательные паттерны при ходьбе // Материалы V Всероссийской, с международным участием, конференции «Управление движением» 2014. Петрозаводск. 3-5 февраля 2014 г. - С. 13-14

45. Виссарионов С.В., Солохина И.Ю., Икоева Г.А., Савина М.В., **Мошонкина Т.Р.**, Баиндурашвили А.Г., Герасименко Ю.П. Двигательная реабилитация пациента с последствиями позвоночно-спинномозговой травмы методом неинвазивной электростимуляции спинного мозга в сочетании с механотерапией. // Хирургия позвоночника. - 2016. - Т. 13, №1. - С. 8-12.
46. Герасименко Ю.П., Авелев В.Д., Богачева И.Н., **Мошонкина Т.Р.**, Мусиенко П.Е., Щербакова Н.А., Савохин А.А., Городничев Р.М. Новый способ неинвазивного электромагнитного воздействия на структуры спинного мозга для регуляции локомоторного поведения человека и животных. // Материалы Совещание «Нейродегенеративные заболевания: современные представления о патогенезе, диагностике и лечении. Программа Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине». 3 июня. 2010. Москва. – С. 54.
47. Герасименко Ю.П., Щербакова Н.А., **Мошонкина Т.Р.**, Макаровский А.Н., Назаров А.М. «Новая технология восстановления двигательных функций при поражениях спинного мозга». // В Материалах конференции 3-я международная научно-практическая школа-конференция МЕДБИОТЕК «Актуальные вопросы инновационной деятельности в биологии и медицине», Москва, 4-5 декабря 2006. – С. 136.
48. Гилерович Е.Г., **Мошонкина Т.Р.**, Павлова Н.В., Новиков Г.И. Локомоторные тренировки крыс с полной перерезкой спинного мозга препятствуют глиозу дистального отдела спинного мозга. // Материалы XX съезда физиологического общества им. И.П.Павлова Москва. 2007. - С. 192-193.
49. Гришин А.А., Солопова И.А., Селионов В.А., **Мошонкина Т.Р.**, Титова Е.Ю., Цветков Д.С., Герасименко Ю.П. Аппаратно-программный комплекс «Биокин» для реабилитации двигательных нарушений центрального генеза. // Материалы VI Российской с международным

участием конференции по управлению движением. Казань, 14-16 апреля 2016. - С. 54.

50. Звозиль А.В., Моренко Е.С., Виссарионов С.В., Умнов В.В., **Мошонкина Т.Р.**, Герасименко Ю.П., Баиндурашвили А.Г. Функциональная и спинальная стимуляция в комплексной реабилитации пациентов с ДЦП. // Успехи современного естествознания. - 2015. - № 2. - С. 40-46.

51. Зеленкова Н.М., Савохин А.А., Богачева И.Н., **Мошонкина Т.Р.**, Герасименко Ю.П. Магнитная стимуляция спинного мозга интактных крыс вызывает локомоторный ответ. Материалы III Всероссийской с международным участием конференции по управлению движением. Великие Луки. 17-19 марта 2010. – С. 23-24.

52. Макаровский А.Н., Герасименко Ю.П., Олейник В.Н., **Мошонкина Т.Р.**, Решетнева Е.В. Клинические аспекты восстановления функций спинного мозга у больных с вертебро-медуллярным конфликтом на фоне эпидуральной электростимуляции. // Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии, медицине, фармакологии. – 2012. - Т. 1. - С. 262-266

53. Миняева А.В., **Мошонкина Т.Р.**, Моисеев С.А., Гришин А.А., Городничев Р.М., Герасименко Ю.П. Влияние неинвазивной стимуляции спинного мозга на спонтанное дыхание человека// Материалы V Всероссийской конференции с международным участием «Медико-физиологические проблемы экологии человека»». - Ульяновск: УлГУ, 2016. - С. 111.

54. Миняева А.В., **Мошонкина Т.Р.**, Моисеев С.А., Саркисян С.С., Гришин А.А., Городничев Р.М., Герасименко Ю.П. Реакция системы дыхания на шагательные движения, вызванные неинвазивной стимуляцией спинного мозга. // Материалы VI Российской с международным участием конференции по управлению движением. Казань, 14-16 апреля 2016. - С. 63.

55. **Мошонкина Т.Р.**, Баранова Н.В. Морфофункциональное исследование поясничного утолщения спинного мозга крыс в норме и после спинализации на нижнем грудном уровне. // Конференция молодых ученых физиология и медицина, Вестник молодых ученых. СПб. 2005. – С. 11.

56. **Мошонкина Т.Р.**, Богачева И.Н., Закирова А.З., Пивоварова Е.А., Савохин А.А., Селионов В.А., Томиловская Е.С., Шигуева Т.А., Щербакова Н.А., Городничев Р.М., Герасименко Ю.П., Козловская И.Б. Влияние стимуляции опорной поверхности стоп на характеристики движений ног, вызываемых электрической стимуляцией спинного мозга. // Материалы IV Всероссийской с международным участием конференции по управлению движением, приуроченной к 90-летнему юбилею кафедры физиологии ФГБОУ ВПО «РГУФКСМиТ» 01 – 03 февраля 2012 г. М., 2012. - С. 100.

57. **Мошонкина Т.Р.**, Гилерович Е.Г., Баранова Н.В., Шишко Т.Т., Федорова Е.А. Реорганизация синапсов в спинном мозге крысы после перерезки. // Материалы I Съезда физиологов СНГ, Сочи. 2005. - Т. 1. – С. 21.

58. **Мошонкина Т.Р.**, Гилерович Е.Г., Федорова Е.А., Новиков Г.И., Герасименко Ю.П. Исследования адаптивных механизмов спинного мозга в регуляции локомоторной активности крыс. // Материалы I Всероссийской, с международным участием конференции по управлению движением. Великие Луки, 14-17 марта 2006. - С. 75.

59. **Мошонкина Т.Р.**, Городничев Р.М., Савохин А.А., Шупляков В.С., Щербакова Н.А., Герасименко Ю.П. Новый способ управления непроизвольными локомоторными движениями человека // Материалы V Всероссийской, с международным участием, конференции «Управление движением», Петрозаводск. 3-5 февраля 2014. - С. 47.

60. **Мошонкина Т.Р.**, Павлова Н.В., Герасименко Ю.П., Малыгин А.В. Опыт использования ТЭС-терапии для восстановления локомоции

у спинальных крыс. // Материалы конференции «Актуальные проблемы ТЭС-терапии», СПб, 20-21 ноября 2008. – С. 35.

61. **Мошонкина Т.Р.**, Павлова Н.В., Зеленкова Н.М., Герасименко Ю.П. Морфологические и функциональные особенности спинного мозга крыс после перерезки спинного мозга, нейротомии n. suralis и локомоторных тренировок. // Материалы Седьмого международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии». Судак, Украина. 2011. - С. 301-302.

62. **Мошонкина Т.Р.**, Павлова Н.В., Зеленкова Н.М., Новиков Г.И., Герасименко Ю.П. Исследование роли афферентов в организации локомоторных движений на экспериментальной модели спинализированных крыс с денервацией задних конечностей. // Материалы Пятого Международного Междисциплинарного Конгресса «Нейронаука для медицины и психологии» Судак, Крым, Украина, 3-13 июня 2009 г. – С. 159-160.

63. **Мошонкина Т.Р.**, Павлова Н.В., Шапкова Е.Ю., Герасименко Ю.П. Участие серотонинергической системы в моторном контроле: от эксперимента к клинике. // Материалы VIII Всероссийской с международным участием конференции с элементами школы по физиологии мышц и мышечной деятельности. Москва, 2 - 4 февраля 2015 г. - М.: ООО «Альфа-Принт». 2015. - С. 61.

64. **Мошонкина Т.Р.**, Солопова И.А., Сухотина И.А., Виссарионов С.В., Никитюк И.Е., Икоева Г.А., Баиндурашвили А.Г., Герасименко Ю.П. Применение чрескожной электрической стимуляции спинного мозга в реабилитации детей с ДЦП. // Материалы VI Российской с международным участием конференции по управлению движением. Казань, 14-16 апреля 2016. - С. 64.

65. **Мошонкина Т.Р.**, Солопова И.Н., Сухотина И.А., Виссарионов С.В., Никитюк И.Е., Икоева Г.А., Герасименко Ю.П. Обоснование и использование неинвазивных методов электростимуляции для

коррекции двигательных нарушений у детей с тяжелыми формами ДЦП. // Научные труды V Съезда физиологов СНГ. Сочи, Россия. 4–8 октября 2016. - Т. 1. - С. 29.

66. **Мошонкина Т.Р.**, Шапкова Е.Ю., Сухотина И.А., Емельянников Д.В., Герасименко Ю.П. Клиническое исследование сочетания электрической стимуляции спинного мозга и активации серотониновых рецепторов у пациентов с хроническим поражением спинного мозга. // Материалы Одиннадцатого международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии». Судак, Крым, Россия, 2-12 июня 2015 года. - 2015. - С. 285.

67. **Мошонкина Т.Р.**, Шапкова Е.Ю., Штырина Е.В., Емельянников Д.В., Герасименко Ю.П. Сердечно-сосудистая система человека реагирует на чрескожную стимуляцию спинного мозга. // Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы физиологии высшей нервной деятельности, сенсорных и висцеральных систем», посвященной 90-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Санкт-Петербург–Колтуши, 8–10 декабря 2015 года. - 2015. - С. 142-143.

68. Павлова Н.В., **Мошонкина Т.Р.**, Гилерович Е.Г. Морфофункциональное исследование влияния афферентной и фармакологической стимуляции на «изолированное» поясничное утолщение спинного мозга крыс. // Материалы II Российской конференции по управлению движением. Петрозаводск. 30 января – 1 февраля, 2008. – С. 70-72.

69. Павлова Н.В., **Мошонкина Т.Р.**, Зеленкова Н.М., Гилерович Е.Г., Герасименко Ю.П. Морфофункциональное изучение спинного мозга и спинальных ганглиев крыс после перерезки спинного мозга и нейротомии афферентного нерва. // Материалы Восьмого международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии». Украина, Судак, 2012. – С. 310.

70. Платонов А.К., Павловский В.Е., Сербенюк Н.С., Гришин А.А., Герасименко Ю.П., **Мошонкина Т.Р.** Биомехатроника лечебно-исследовательского тренажёра-кровати. // Препринт ИПМ № 16. Москва, 2012.

71. Саркисян С.С., **Мошонкина Т.Р.**, Миняева А.В., Моисеев С.А., Герасименко Ю.П. Влияние чрескожной электрической стимуляции спинного мозга на частоту сердечных сокращений. // Материалы VI Российской с международным участием конференции по управлению движением. Казань, 14-16 апреля 2016. - С. 71.

72. Шапкова Е.Ю., Емельянников Д.В., **Мошонкина Т.Р.**, Штырина Е.В., Герасименко Ю.П. Электростимуляция спинного мозга с фармакологической поддержкой у пациентов с хроническим поражением спинного мозга. // Материалы VIII Всероссийской с международным участием конференции с элементами школы по физиологии мышц и мышечной деятельности. Москва, 2 - 4 февраля 2015 г. - М.: ООО «Альфа-Принт». 2015. - С. 72.

73. Щербакова Н.А., Богачева И.Н., Зеленкова Н.М., Савохин А.А., **Мошонкина Т.Р.**, Герасименко Ю.П. Исследование рефлекторных мышечных ответов, вызванных электромагнитной стимуляцией спинного мозга в крыс. Материалы IV Всероссийской с международным участием конференции по управлению движением, приуроченной к 90-летнему юбилею кафедры физиологии ФГБОУ ВПО «РГУФКСМиТ». М., 01 – 03 февраля 2012. – С. 169.

74. **Moshonkina T.**, Avelev V., Gerasimenko Yu., Mathur R., Bijlani R.L. Treadmill training accelerates restoration of locomotion after complete spinal cord transection in the rat. // Indian J. Physiol. Pharmacol. - 2002. - V. 46, N4. - P. 499-503.

75. **Moshonkina T.**, Novikov G., Gilerovich E., Fedorova E., Gerasimenko Y.. Stepping restoration in chronically spinalized rats by treadmill training. // Artificial Organs. – 2004. – V. 28, N8. - P. 754.

76. **Moshonkina T.R.**, Avelev V.D., Bogacheva I.N., Savohin A.A., Gerasimenko Y.P. Locomotor-like activity in acute spinalized rats induced by epidural spinal cord stimulation. // ISPGR 2005-XVII Conference – Marseille, France. Abstract. - V. 21, Suppl.1. – P. 104.