На правах рукописи

КАЛАШНИКОВ ВИТАЛИЙ ЕВГЕНЬЕВИЧ

ХАРАКТЕР И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ПРИРОДА СПОНТАННОЙ АКТИВНОСТИ ВОЛОКОН ПОСТУРАЛЬНОЙ МЫШЦЫ КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКИ

Специальность 1.5.5 (физиология человека и животных)

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Москва, 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Государственном научном центре Российской Федерации – Институте медико-биологических проблем Российской академии наук

Научный руководитель Доктор биологических наук, профессор **Шенкман Борис Стивович**.

Официальные оппоненты: **Гайдуков Александр Евгеньевич**, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», биологический факультет, кафедра физиологии человека и животных, лаборатория общей физиологии и регуляторных пептидов, ведущий научный сотрудник.

Яковлев Алексей Валерьевич, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, кафедра физиологии человека и животных, профессор кафедры.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук».

Защита состоится «__» _____ 20__ г. В __ часов __ минут на заседании диссертационного совета 24.1.023.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Государственном научном центре Российской Федерации -Институте медико-биологических проблем Российской академии наук по адресу: 123007, г Москва, Хорошёвское шоссе 76А

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки – Государственного научного центра Российской Федерации – Института медико-биологических проблем Российской академии наук по адресу 123007, г Москва, Хорошёвское шоссе 76А: и на сайте http://www.imbp.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета,

кандидат биологических наук

Поддубко Светлана Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Исследование нейромоторной адаптации скелетной мускулатуры человека и других млекопитающих к условиям длительной гравитационной разгрузки остаётся одним из ключевых направлений авиакосмической физиологии в контексте современных орбитальных и планируемых долговременных космических полётов. Важную роль в изучении молекулярных сигнальных путей, опосредующих функциональную перестройку постуральной мускулатуры в условиях гипогравитации, играет известная схожесть между нервно-мышечными изменениями, наблюдаемыми при функциональной разгрузке постуральной мускулатуры («сухая иммерсия», параболический полёт, антиортостатическое вывешивание), и в моделях хирургической изоляции спинного мозга, устраняющей нейронную активацию двигательных единиц. Вместе с тем, до последнего времени оставался практически неизученным известный с 80-х годов XX века феномен развития у лабораторных животных спонтанной активности камбаловидной мышцы в условиях функциональной разгрузки задней конечности. В различных экспериментах, моделирующих условия гравитационной разгрузки на грызунах, неоднократно демонстрировалось, что первоначально наблюдаемое радикальное снижение электромиографической активности камбаловидной мышцы через некоторое время (примерно на третьих сутках разгрузки) сменяется постепенным появлением и последующим нарастанием электрической активности, к 14-м суткам достигающей значений, сопоставимых с показателями виварного контроля [3, 6, 8]. Это явление, вызывающее интерес у различных авторов, до сих пор не подвергалось обстоятельному исследованию, в связи с чем физиологический смысл спонтанной активности мотонейронов в условиях гравитационной разгрузки и лежащие в её основе молекулярные механизмы оставались неясны. В последнее время получил известность феномен повышенной возбудимости мотонейронов вследствие изменения характера работы хлоридного транспорта [4]. В результате снижения экспрессии калий-хлоридного котранспортера KCC2 поток хлорид-ионов через канал инвертируется, и мембрана приобретает свойства возбуждаться при действии тормозных медиаторов ГАМК или глицина [4]. Установлено, что именно эта повышенная возбудимость и является причиной развития спастической активности после нарушения целостности спинного мозга [4,7]. В настоящем исследовании мы выдвинули гипотезу о том, что длительная функциональная разгрузка задних конечностей может аналогичным образом приводить к снижению экспрессии белка KCC2 в мотонейронах спинного мозга, что рассматривается нами в качестве гипотетической причины развития спонтанной активности в камбаловидной мышце крысы.

Цель и задачи исследования

Целью данной работы является изучение механизмов спонтанной ЭМГ-активности в разгруженной постуральной мышце крысы и анализ её сигнальных последствий. Для достижения этой цели были сформулированы следующие задачи:

1. Исследование биоэлектрической активности камбаловидной мышцы крысы на разных сроках функциональной разгрузки.

2. Исследование роли калий-хлоридного котранспортёра KCC2 в спонтанной генерации импульсов в условиях гравитационной разгрузки.

3. Исследование маркеров внутриклеточных сигнальных путей камбаловидной мышцы при снижении/устранении спонтанной активности в результате фармакологической активации KCC2.

4. Исследование эффекта применения электромиостимуляции в периоды пониженной электрической активности m.soleus крысы в условиях гравитационной разгрузки.

5. Исследование роли BDNF-зависимого метаботропного сигналинга в регуляции содержания KCC2 в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга крысы в условиях гравитационной разгрузки.

Научная новизна работы

1. Впервые обнаружено снижение содержания калий-хлоридного котранспортёра KCC2 и повышение содержания натрий-калий-хлоридного котранспортёра NKCC1 в поясничном отделе спинного мозга крысы при длительной функциональной разгрузке задней конечности животного.

2. Впервые показана связь между содержанием KCC2 в поясничном отделе спинного мозга крысы и спонтанной электрической активностью камбаловидной мышцы.

3. Впервые показано влияние электростимуляции камбаловидной мышцы на баланс содержания ионных котранспортёров (KCC2 и NKCC1) в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга.

4. Впервые показана роль BDNF в поддержании нормального содержания KCC2 в спинном мозге.

Научно-практическая значимость

Значимость работы состоит в получении новых фундаментальных знаний о природе спонтанной активности постуральной мышцы в условиях гравитационной разгрузки и лежащих в её основе физиологических механизмах. Новые данные позволят не только расширить представления о фундаментальной физиологии мышечной ткани, но и могут найти применение в космической и реабилитационной медицине, поскольку спонтанная активность камбаловидной мышцы является важной моделью для изучения внутримышечных сигнальных путей, регулирующих непрерывную антигравитационную работу этой мышцы.

Личный вклад соискателя

Диссертация является результатом научных исследований автора, проводившихся в период с мая 2022 года по май 2025 года. Автором была поставлена цель и определены задачи для её достижения, составлен план эксперимента. Произведена адаптация методик электромиографии и электростимуляции камбаловидной мышцы под задачи эксперимента; проведены регистрация и анализ электрической активности камбаловидной мышцы на фоне 7-суточного и 14-суточного антиортостатического вывешивания; произведён анализ содержания в биоматериале спинного мозга крысы KCC2, NKCC1 на фоне 7-суточного и 14-суточного антиортостатического вывешивания, а так же содержания TrkB и компонентов ГАМК-эргического сигнального пути методом Вестерн-блоттинга; проведена электростимуляция камбаловидной мышцы крысы; методами иммуногистохимии и Вестерн-блоттинга оценены эффекты применения электромиостимуляции в периоды пониженной электрической активности m.soleus крысы; сформулированы выводы и заключение диссертационной работы.

Положения, выносимые на защиту

1. Наблюдаемое при длительной (более трёх суток) функциональной разгрузке задней конечности крысы увеличение электрической активности камбаловидной мышцы связано со снижением содержания калий-хлоридного котранспортёра KCC2 в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга.

2. Сократительная активность постуральной мышцы (в частности, низкочастотная хроническая электростимуляция) значимо уменьшает степень снижения содержания KCC2 в поясничном отделе спинного мозга на фоне 7- и 14- суточной моделируемой гравитационной разгрузки.

3. BDNF-зависимая сигнализация вносит определенный вклад в поддержание стабильности KCC2 поясничном отделе спинного мозга в условиях нормальной активности постуральной мышцы.

4. Разнонаправленные изменения сигнальных механизмов камбаловидной мышцы при фармакологическом предотвращении спонтанной мышечной активности свидетельствуют об отсутствии выраженной компенсаторной роли спонтанной мышечной активности при гравитационной разгрузке.

Апробация результатов

Основные результаты и положения диссертационной работы были представлены и обсуждены на: XIX Конференции молодых ученых, специалистов и студентов, посвященной 60-летию первого полета человека в космос (Москва, 2021); Всероссийской конференции с международным участием «Интегративная физиология» (Санкт-Петербург, 2021); IX Российской конференции с международным участием по управлению движением, посвященной 95-летию со дня рождения И. Б. Козловской (Казань, 2022); XXI Конференции молодых учёных, специалистов и студентов, посвящённой 60-летию Института медико-биологических проблем. (Москва, 2023); XI Всероссийской с международным участием школы-конференции по физиологии мышц и мышечной деятельности, посвященной 70-летию открытия механизма мышечного сокращения (Москва, 2024).

По теме диссертации работы опубликовано 7 статей в журналах, рекомендованных ВАК, а также 5 тезисов докладов конференций.

ОРГАНИЗАЦИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объект исследований

В экспериментах использовались самцы крыс линии Вистар, весом 200 ± 10 г. Разведение крыс производилось при температуре около 20-22°C, а их питание соответствовало рациону для лабораторных животных. Все эксперименты проводились в соответствии с нормами биоэтики проведения исследований на животных и были утверждены Физиологической секцией Национального комитета по биомедицинской этике.

В рамках исследования было проведено четыре серии экспериментов:

1. В первой серии (изучение содержания котранспортеров KCC2 и NKCC1) проведено два эксперимента:

- в первом использованы группы «C» (контроль, n=8), «7HS» (7-суточное антиортостатическое вывешивание, n=8) и «7HS+Phpz» (вывешивание с введением прохлорперазина, n=8);

- во втором — группы «С» (контроль, n=8), «7HS» (7-суточное вывешивание, n=8) и «7HS+CLP290» (вывешивание с введением CLP-290, n=8).

На материалах первой серии дополнительно проведён анализ ответов сигнальных путей камбаловидной мышцы крысы при фармакологической блокировке спонтанной электрической активности.

2. Во второй серии (регистрация биоэлектрической активности) проведено два эксперимента:

- в первом эксперименте изучали группы «7HS» (вывешивание, n=8) и «7HS+PHPZ» (вывешивание с введением прохлорперазина, n=8);

- во втором — группы «14HS» (вывешивание, n=10) и «14HS+CLP290» (вывешивание с введением CLP-290, n=10).

3. В третьей серии (изучение эффекта электромиостимуляции) животные были разделены на группы «С» (контроль, n=10), «7HS» (7-суточное вывешивание, n=10) и «7HStim» (7-суточное вывешивание с применением электромиостимуляции, n=10).

4. В четвёртой серии (исследование роли TrkB-рецепторов) использованы следующие группы: «CSO» (контроль с ложной операцией, n=10), «HSO» (14-суточное вывешивание с ложной операцией, n=10), «HStim» (14-суточное вывешивание с вживлением электродов и электромиостимуляцией, n=8) и «HStimBDNF-» (14-суточное вывешивание с вживлением электродов, электромиостимуляцией и введением блокатора TrkB-рецепторов, n=8).

После проведения экспериментов животных усыпляли 10%-ным раствором авертина, затем, в отдельных экспериментах, извлекали камбаловидные мышцы из обеих ног и поясничные отделы спинного мозга. Мышцы и поясничные отделы спинного мозга замораживались в жидком азоте и помещались в холодильник для хранения при температуре -85°С и последующей обработки.

Антиортостатическое вывешивание

Функциональная разгрузка задних конечностей экспериментальных животных производилась путём создания условий моделируемой мигрогравитации методом антиортостатического вывешивания. Крысы размещались в индивидуальных клетках для вывешивания. К хвосту крысы при помощи пластыря прикреплялась металлическая петля, позволяющая подвесить хвост к поворотному механизму специально сконструированной тележки, свободно перемещающейся по расположенному в верхней части клетки рельсу. Передние конечности при этом опираются на пол клетки, позволяя животному передвигаться по клетке и иметь неограниченный доступ к воде и пище. Температуру и влажность в помещении с животными поддерживали на уровне 24°С и 50% соответственно при 12/12-часовом цикле свет/темнота. Все крысы имели доступ к стандартной диете и воде.

Электромиография камбаловидной мышцы крысы

Электромиограмму камбаловидной мышцы крысы регистрировали посредством внутримышечных электродов. В качестве электродов использовались многожильные провода из нержавеющей стали с тефлоновым покрытием PFA (A-M Systems, Sequim, WA, USA). Провода в мышце были подкожно подсоединены к разъёму, расположенному на спине крысы. Для разъёмов с помощью 3D-принтера были изготовлены держатели. Отверстия по широким краям держателя разъёма позволяли плотно прикрепить разъём к коже хирургическим швом. Для защиты разъёма от возможных повреждений был использован съемный защитный колпачок.

Имплантация электрода проводилась под общей анестезией (Золетил 100, 28 мг/кг веса животного + ксилазин, 0,28 мл/кг веса, внутримышечно) в соответствии с принципами асептики и антисептики. Для доступа к камбаловидной мышце, на боковой поверхности задней конечности сделан разрез длиной около 1,5 см. Для установки штекерного разъема сделан разрез примерно на 1,5 см выше поясничного отдела позвоночника. Кровотечение из сосудов останавливалось при помощи электрокоагуляции.

Провода вставлялись путём продевания нити через иглу 23-го калибра, пропущенную через мышцу. Отрезок провода со снятой изоляцией (~1,5 мм) имплантирован в среднюю часть камбаловидной мышцы правой задней конечности. Два провода вставлены параллельно мышечным волокнам (на расстоянии ~2 мм друг от друга). Каждая проволока закреплена узлами (этилоновый шов 4-0) на входе и выходе из мышцы, при этом мышца могла свободно сокращаться. Штекерный разъем с держателем и прикрепленным силиконовым овалом был вставлен в разрез над поясничным отделом позвоночника и пришит к коже с помощью этилона 4-0. Разрез на задней конечности был зашит викрилом 5-0, а кожа зашита этилоном 4-0. После операции каждая крыса получила 5 мл физиологического раствора и инъекцию бициллина-3 (120 000 ЕД/кг, подкожно) для предотвращения возможной инфекции. Перед проведением электрофизиологических исследований животные проходили послеоперационный реабилитационный период в течение 7 дней. Электромиографический сигнал усиливался при помощи дифференциального усилителя переменного тока AM-Systems 1700 с частотой дискретизации 5 кГц. Первоначально необработанный сигнал был отфильтрован с использованием фильтров низкой частоты (100 Гц) и высокой частоты (5000 Гц). После этого полученный сигнал был дополнительно отфильтрован в программе PowerGraph с использованием полосового фильтра 100 Гц – 1000 Гц. Полученный сигнал обработан с помощью модуля АЦП L-CARD E14-440D и соответствующего программного обеспечения (LGRAPH2 и Powergraph 3.3). Для оценки спектральных характеристик принимаемого сигнала использовалось быстрое преобразование Фурье (FFT), после чего применялись дополнительные цифровые полосовые фильтры. Анализ амплитуды ЭМГ-сигнала проводился по среднеквадратичной огибающей (RMS). Скелетные мышцы во время записи ЭМГ не подвергались стимуляции. Перед началом антиортостатического вывешивания регистрировали ЭМГ-активность камбаловидной мышцы у крысы в состоянии покоя без функциональной разгрузки конечностей (крыс помещали в маленькие клетки и оставляли одних для ограничения движений) в течение 15 мин 3 раза в день в течение 2 дней подряд. Несмотря на то, что крысы время от времени двигались, в целом они вели малоподвижный образ жизни. Анализировались электромиограммы, полученные в состоянии покоя. Затем крысам разгружали задние конечности на 7 дней. В условиях разгрузки активность ЭМГ регистрировалась ежедневно (3 раза в день по 15 мин).

Электростимуляция мышц голени крысы

На латеральной поверхности бедра седалищный нерв делится на большеберцовый нерв, общий малоберцовый нерв и медиальный кожный нерв икры. Большеберцовый нерв спускается по подколенной ямке в заднюю поверхность голени [1]. Спиралевидные электроды устанавливали с обеих сторон большеберцового нерва руководствуясь методикой Kim Y, 2018. Крыс анестезировали золетилом в дозе 28 мг/кг и ксилазина гидрохлоридом (XylaVET 20 мг/мл) в дозе 0, 28 мл/кг массы внутримышечно. Шерстный покров в местах доступа к мышцам удаляли ветеринарным триммером Codos. При необходимости применяли 1-3% изофлуран в смеси с кислородом. Операции проводились со строгим соблюдением правил асептики и антисептики. Кожу оперируемых областей обрабатывали этиловым спиртом и йодом. Провода протягивались под кожей к мышце от головной розетки, которая фиксировалась к черепу с помощью 3х винтов и стоматологического цемента. В положении животного на правом боку делали надрез на

коже левой задней конечности длиной примерно 2 см в районе середины бедра. Тупыми хирургическими ножницами отделяли кожу от подлежащих тканей и делали небольшой разрез на двуглавой мышце бедра чуть ниже середины. Затем мышцы раздвигали тупо, пока не становился виден седалищный нерв и место его разделения на 3 ветви. С помощью скальпеля зачищали изоляцию на краях проводов примерно на 2 см и обворачивали вокруг иглы 21 G. Полученные спирали фиксировали к мышцам тонким ПГА (6-0) на расстоянии 1,5 мм от большеберцового нерва с обеих сторон от него. Делали 3-4 шва с каждой стороны. Затем в рану наносили 2-3 капли раствора бициллина-5 в физиологическом растворе и зашивали мышцы двойным швом при помощи ПГА (6-0). Оставшиеся провода убирали в карман под кожей, который делали на бедре над областью разреза. Затем снова наносили раствор антибиотика и зашивали кожу этилоном (4-0). Проверяли работу системы, присоединяя розетку к стимулятору 3800 Multistim: 8-channel stimulator. Подвергали крысу действию нескольких имульсов тока и наблюдали сокращение мышц тазовой конечности в ответ на стимуляцию. Применяли мелоксикам трижды в дозе 1мг/ кг подкожно каждые 24 часа после операции и бициллин 5 в дозе 20000 ед/крысу после операции и далее 1 раз в 10 дней. После операции тщательно наблюдали за состоянием каждого животного, проводили обработку швов настойкой йода. С момента операции до введения в эксперимент восстановление составляло не менее 5-7 дней. В ходе электростимуляции биполярные импульсы с длительностью 0,4 мс, частотой 20 герц и амплитудой от 0,2 до 0,4 Ампер подбирались индивидуально для крыс, пока не было видимого сокращения. Стимуляция проводилась в течение 7 суток по 8 часов в сутки в соответствии с протоколом Francis Canon et al. [5].

Фармакологическая модуляция содержания KCC2/NKCC1 в мотонейронах спинного мозга

В экспериментах с прохлорперазином препарат (#P9178; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) вводили внутрибрюшинно дважды в день в концентрации 5 мкг на килограмм веса животного в физрастворе с 0.1% DMSO. Применяемая доза была высчитана [9] на основе эквивалентной человеческой терапевтической дозы (112 mg/kg). Крысы из групп C и 7HS получали эквивалентную дозу физраствора с 0.1% DMSO без прохлорперазина.

В экспериментальных сериях с введением CLP-290 (Macklin, Китай) препарат вводили внутрибрюшинно один раз в день в дозировке 100 мг/кг в 15%- ном растворе циклодекстрина. Раствор фильтровали через бактериальный фильтр с размером пор 0.22 мкм.

Фармакологическое ингибирование BDNF-чувствительных TRKb-рецепторов в мотонейронах спинного мозга

В рамках экспериментального исследования эффектов фармакологического ингибирования BDNF-чувствительных TRKb-рецепторов самцы крыс Wistar с массой тела 180–210 г и возрастом 1,5-2 месяца были разделены на 4 группы: 1) «CSO» – группа сидячего контроля с ложной операцией и ежедневным введением плацебо (n = 10); 2) «HSO» – группа антиортостатического 14- суточного вывешивания с ложной операцией и ежедневным введением плацебо (n = 10); 3) «HStim» – группа антиортостатического 14-суточного вывешивания с электростимуляцией одной задней конечности и ежедневным введением плацебо (n = 8); 4) «HStimBDNF-» – группа антиортостатического 14-суточного вывешивания электростимуляцией одной задней конечности и ежедневным введением ингибитора TrkB ANA-12 (n = 8). В качестве плацебо использовали физиологический раствор, который вводили внутрибрюшинно два раза в день. Ингибитор TrkB ANA-12 (Macklin, Китай) вводили внутрибрюшинно два раза в день. Каждая инъекция содержала вещества 0,5 мг/кг в физиологическом растворе с 2,4% ДМСО.

Анализ содержания белков

Содержание KCC2, NKCC1, белков-компонентов ГАМКэргического сигнального пути, а также уровень фосфорилирования p70 S6 исследовали при помощи *вестерн-блотинга.*

Замороженные образцы тканей крысы гомогенизировали в буферной лизисной системе RIPA. Лизированные образцы центрифугировали в течение 15 минут при температуре +4°C и 12000 оборотах в минуту. Отобран супернатант; концентрация белка в супернатанте измерена методом брэтфорда.

Электрофорез проводили в 10% полиакриламидном геле, в мини-системе Bio-Rad (США) в течение 1 ч при силе тока 17 мА на один гель. Перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану (Bio-Rad, США) осуществляли в системе mini Trans-Blot (Bio-Rad, США) в течение 2 ч при температуре +4 °C и постоянном напряжении 100 В. Затем, для проверки равной загрузки белка на все дорожки, нитроцеллюлозная мембрана красилась краской Ponceau S. После этого мембрану отмывали от Ponceau S и блокировали в 4%-ном растворе сухого молока в PBST (PBS + 0,1 % Tween 20) при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем проводили инкубацию (в течение 15 ч, +4 °C) с первичными антителами против исследуемых белков и пуромицина. После этого отмывали мембраны в PBST 3 раза по 5 мин. Затем мембраны инкубировали в течение 1 ч с биотинилированными вторичными антителами. Далее проводили отмывку в PBST 3 раза по 5 мин. Белковые полосы выявляли на мембране с помощью Star TM Substrate Kit (Bio-Rad, USA).

Анализ белковых полос проводили с использованием блот-сканера C-DiGit (LI-COR Biotechnology, USA) и соответствующей программы Image Studio Digits. В качестве референсного белка для нормализации полученного сигнала использовался тубулин.

При анализе белковых полос использовались блот-сканер C-DiGit (LI-COR Biotechnology, США) и программа Image Studio Digits. Нормирование фосфорилированных формы белков производилось на соответствующие тотальные формы белков. Хемилюминесцентный сигнал полосы контрольной группы на анализируемой мембране принимали за 100%, а сигнал полос других групп сравнивали с сигналом полос контрольной группы, расположенных на одной и той же мембране.

Анализ содержания тотальной и рибосомальной РНК

Для выделения РНК из мышечной ткани использовался набор RNeasy Micro Kit (Qiagen, США). Нарезанные на криостате Leica образцы ткани были измерены на электронных весах. Концентрация тотальной РНК определялась на планшетном спектрофотометре. Общий объем пробы нормировался на вес ткани, из которой была выделена данная проба. Аликвота тотальной РНК денатурировалась равным объёмом буфера для нанесения (Thermo Scientific, США) и нагревали в течение 10 минут при 70ºС. Для проведения обратной транскрипции были использованы компоненты фирмы «Синтол» (Россия): 30 мкМ случайных гексануклеотидов, 17,4 мкМ олиго-d(T)15, 1,3 мМ дНТФ, 0,02 ед./мкл ингибитора РНКазы, 6 ед./мкл M-MLV-ревертазы, 5х-буфер для M-MLV-ревертазы. Обратную транскрипцию проводили в амплификаторе (CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System, «Bio-Rad Laboratories», США). Для проведения ПЦР в реальном времени использовали полученную в результате обратной транскрипции кДНК, праймеры с концентрацией 10 мкМ мастер-микс (0,3 мМ дНТФ, 3 мМ MgCl2, 2,5 мкл 10-кратного ПЦР-буфера Б (pH 8,8), 0,06 ед./мкл Taq ДНК-полимеразы, «Синтол»). Для оценки содержания кДНК различных генов в каждой пробе были использованы значения Ct(тест) и Ct(реф), где Ct(реф) – точка пересечения базовой линии и графика амплификации референсного гена в пробе, а Ct(тест) - точка пересечения базовой линии и графика амплификации изучаемого

гена в той же пробе. В качестве референсного гена с помощью базы EST Database был выбран ген rpl19.

Статистический анализ

Так как нормальное распределение выборки было подтверждено не во всех случаях, для сравнения групп между собой был использован непараметрический тест Крускала-Уоллиса. Для статистического анализа использовался программный пакет SigmaPlot 12.5. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартной ошибки среднего (выраженного в процентах от среднего значения контрольной группы). Уровень значимости $p < 0,05$ считался статистически значимым.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование содержания мембранных ионных котранспортёров KCC2 и NKCC1 в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга крыс при функциональной разгрузке и модуляция их содержания в мотонейронах с помощью фармакологических средств

В двух экспериментах исследовано влияние 7-суточного антиортостатического вывешивания на содержание KCC2 и NKCC1 в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга при функциональной разгрузке конечностей. 7-суточное антиортостатическое вывешивание привело к значимому снижению содержания KCC2 в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга крысы до 65% (в первом эксперименте) и 50% (во втором эксперименте) от уровня контрольных животных. При этом, в группах с внутрибрюшинным введением активаторов KCC2 прохлорперазина и CLP-290 (Рисунок 1) на фоне 7-суточного антиортостатического вывешивания не наблюдалось значимых отличий содержания KCC2 от контрольных животных.

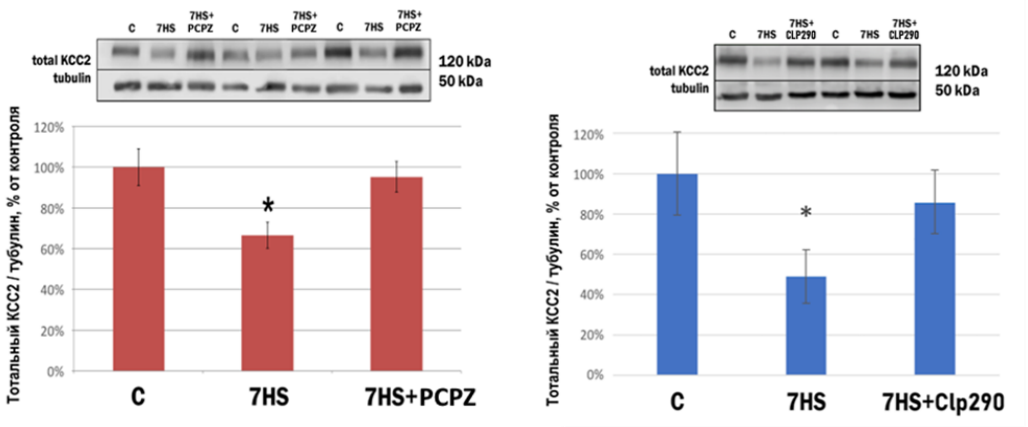


*Рисунок 1. Содержание калий-хлоридного котранспортёра KCC2 в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга крысы на фоне 7-суточного вывешивания. C – контроль, 7HS – семисуточное вывешивание, 7HS+PHPZ – семисуточное вывешивание с введением прохлорперазина. 7HS + CLP-290 – семисуточное вывешивание с введением CLP-290, * – статистически значимое отличие от уровня контроля*

Снижение содержания KCC2 в поясничном отделе спинного мозга сопровождалось значимым (свыше 140% от уровня контроля) повышением содержания его антагониста NKCC1. В эксперименте с ведением прохлорперазина на фоне антиортостатического вывешивания содержание NKCC1 в поясничном отделе спинного мозга сохранилось на уровне значений контрольной группы. В эксперименте с CLP-290 введение препарата на фоне антиортостатического вывешивания сопровождалось статистически значимым снижением содержания NKCC1 в поясничном отделе спинного мозга относительно значений контрольной группы (Рисунок 2).

Регистрация и фармакологическая модуляция биоэлектрической активности камбаловидной мышцы крысы на разных сроках функциональной разгрузки различной продолжительности.

В двух экспериментах (с 7-суточным и 14-суточным антиортостатическим вывешиванием) интегральная ЭМГ-активность камбаловидной мышцы в первые сутки антиортостатического вывешивания снизилась до 20% от контрольных значений. Начиная с третьих суток вывешивания, в обоих экспериментах отмечался рост интегральной ЭМГ в группе «чистого» вывешивания: в первом эксперименте до 40% к пятым суткам вывешивания; во втором эксперименте до 50% к пятым суткам и до 90% к двенадцатым суткам антиортостатического вывешивания (Рисунок 3).

В обоих экспериментах в группах с внутрибрюшинным введением фармакологических активаторов KCC2 на фоне антиортостатического вывешивания (прохлорперазина в эксперименте с 7-суточным вывешиванием и CLP-290 в эксперименте с 14-суточным вывешиванием) наблюдалось статистически значимое отличие в уровне интегральной ЭМГ-активности от групп «чистого» вывешивания начиная с третьих суток вывешивания, при этом в группах с внутрибрюшинным введением активаторов KCC2 уровень интегральной ЭМГ-активности за всё время антиортостатического вывешивания не превышал 25% от уровня контроля (в эксперименте с прохлорперазином) и 30% от

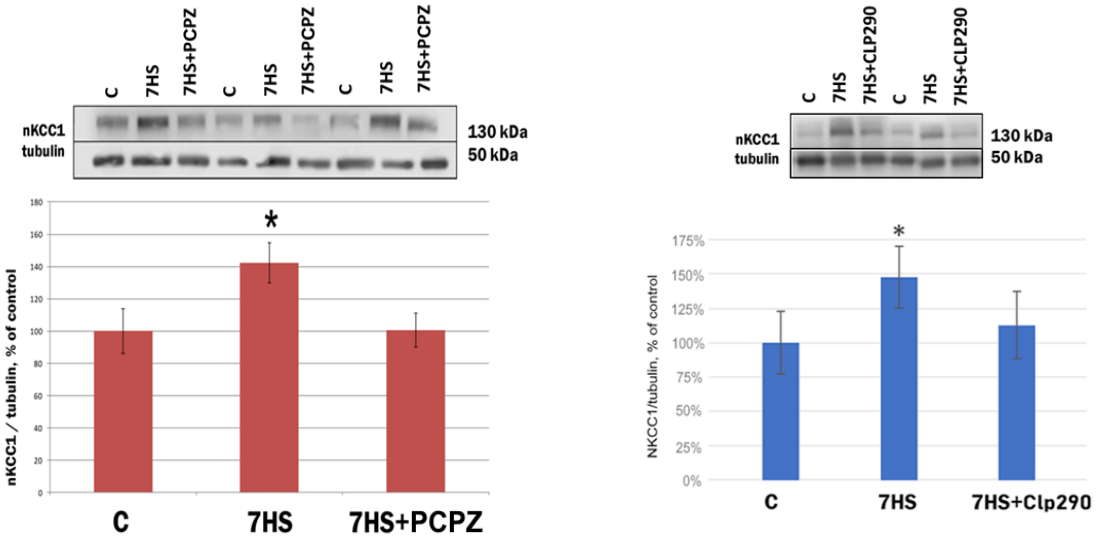


*Рисунок 2. Содержание натрий-калий-хлоридного котранспортёра NKCC1 в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга крысы на фоне 7-суточного вывешивания. С – контроль, 7HS – семисуточное вывешивание с введением плацебо, 7HS+PHPZ – семисуточное вывешивание с введением прохлорперазина, 7HS + CLP-290 – семисуточное вывешивание с введением CLP-290, * – статистически значимое отличие от уровня контроля.*

уровня контроля (в эксперименте с CLP-290). Примеры записи ЭМГ-активности камбаловидной мышцы приведены на рисунке 4.

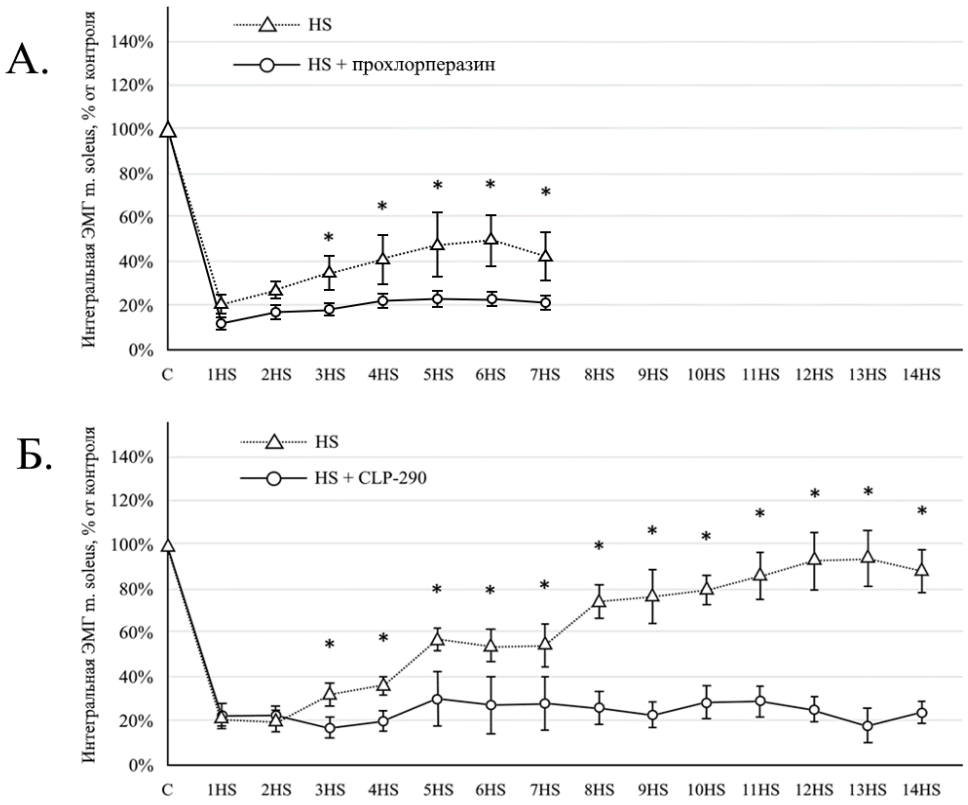


*Рисунок 3. Динамика интегральной ЭМГ-активности камбаловидной мышцы на фоне 7-суточного (с введением и без введения прохлорперазина) и 14-суточного (с введением и без введения CLP-290) антиортостатического вывешивания. * - статистически значимое между группами с введением и без введения препарата (p <0,05).*

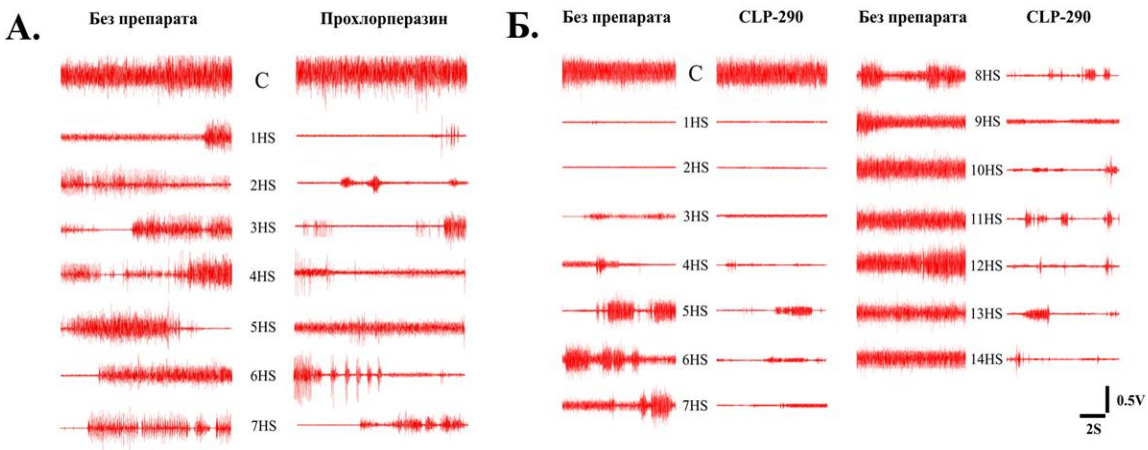


*Рисунок 4. Примеры записи ЭМГ-активности камбаловидной мышцы перед антиортостатическим вывешиванием (С) и во 7-суточного (с введением и без введения прохлорперазина) и 14-суточного (с введением и без введения CLP-290) антиортостатического вывешивания. * стати стически значимое между группами с введением и без введения препарата (p <0,05).*

Исследование эффекта применения электромиостимуляции в периоды пониженной электрической активности m.soleus крысы в условиях гравитационной разгрузки

В эксперименте с электростимуляцией большеберцового нерва крысы на фоне 7-суточного вывешивания зарегистрировано снижение содержания KCC2 и увеличение содержания его антагониста NKCC1 (Рисунок 5) в поясничном отделе спинного мозга животных из группы чистого вывешивания в сравнении с группой контроля. Электростимуляция предотвратила снижение содержания KCC2 и рост содержания NKCC1 в спинном мозге вывешенных животных.

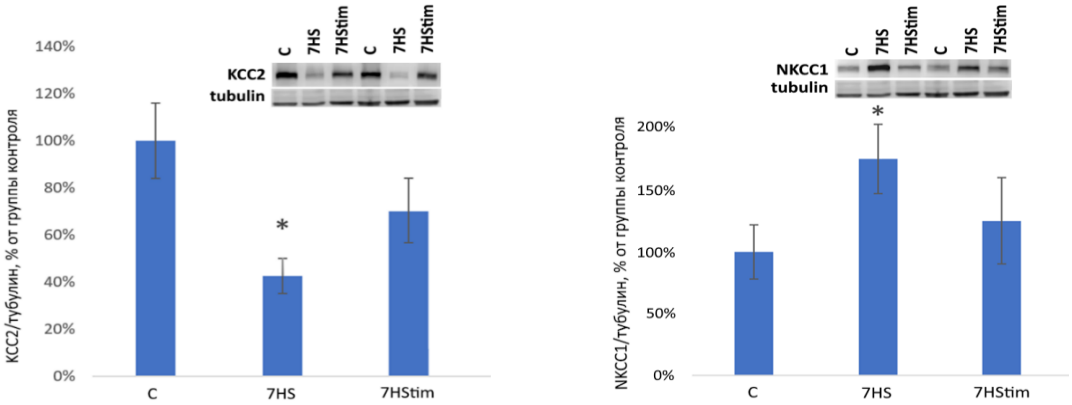


*Рисунок 5. Содержание KCC2 и NKCC1 в поясничном отделе спинного мозга крысы при 7-суточной электростимуляции. C – виварный контроль; 7HS – семисуточная гравитационная разгрузка; 7HSim - семисуточная гравитационная разгрузка в сочетании с электростимуляцией, * - статистически значимое отличие от группы контроля.*

Исследование роли TRKb-рецепторов в регуляции содержания KCC2 в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга крысы

Анализ компонентов ГАМК-эргической системы в поясничном отделе спинного мозгам крыс производился путём оценки содержания в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга глутаматдекарбоксилазы (GAD 65/67), тирозинкиназного рецептора B (TrkB), рецепторов ГАМК (GABA Aα1, GABA Aβ1, GABA BR1), и везикулярного транспортера ГАМК VGAT, как показателя активности выброса ГАМК.

Содержание калий-хлоридного котранспортёра KCC2 в поясничном отделе спинного мозга экспериментальных животных при 14-суточном антиортостатическом вывешивании (HSO) статистически значимо снизилось до уровня 47% от значений группы контроля (CSO), что соответствует ранее полученным результатам. При этом в группе вывешивания с электростимуляцией (Hstim) не наблюдалось отличий от группы контроля, а внутрибрюшинное введение ингибитора TRKb-рецепторов ANA-12 на фоне антиортостатического вывешивания с электростимуляцией (HstimBDNF-) привело к снижению содержания KCC2 до уровня «чистого» вывешивания (рисунок 6). Содержание натрий-калий-хлоридного котранспортёра NKCC1 в поясничном отделе спинного мозга животных при 14-суточном антиортостатическом вывешивании (HSO) статистически значимо увеличилось до уровня 209% от значений группы контроля (CSO).

В группе с электростимуляцией на фоне антиортостатического вывешивания (Hstim) не наблюдалось значимых отличий от группы контроля. В группе с внутрибрюшинным введением ингибитора TRKb-рецепторов ANA-12 на фоне антиортостатического вывешивания с электростимуляцией (HstimBDNF-) наблюдалось достоверное снижение содержания NKCC1 в поясничном отделе спинного мозга относительно группы «чистого» вывешивания (HSO) (рисунок 7).

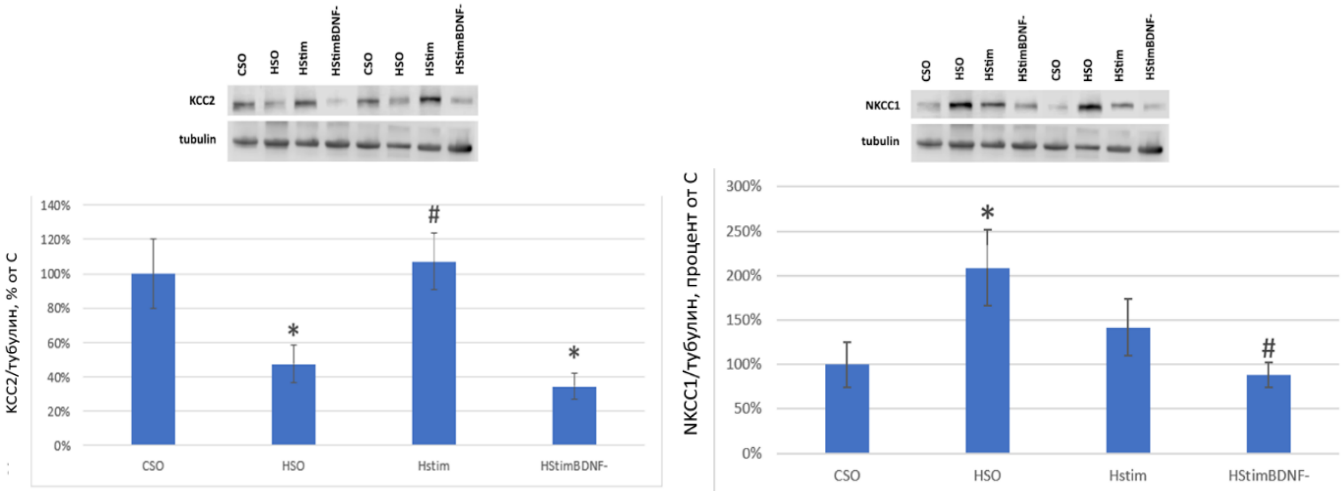


*Рисунок 6. Содержание KCC2 в поясничном отделе спинного мозга крысы при 14-суточной электростимуляции с введением и без введения ANA-12. CSO – ложнооперированный виварный контроль; HSO – 14-суточная гравитационная разгрузка с ложной операцией; HStim – 14-суточная гравитационная разгрузка в сочетании с электростимуляцией; HStimBDNF- - электростимуляция в сочетании с введением ANA-12 на фоне 14-суточной гравитационной разгрузки; * - статистически значимое отличие от группы контроля.*

Содержание TRKb (рецепторов BDNF) в поясничном отделе спинного мозга животных при 14-суточном антиортостатическом вывешивании (HSO) достоверно увеличилось относительно группы CSO. В группе вывешивания с электростимуляцией (группа HStim) не обнаружено отличий от группы контроля (CSO). Внутрибрюшинное введение ингибитора ANA-12 на фоне вывешивания с электростимуляцией (группа HStimBDNF-) достоверно снизило содержание TRKb в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга крысы относительно группы CSO (Рисунок 7).

Внутрибрюшинное введение ингибитора TRKb-рецепторов ANA-12 на фоне антиортостатического вывешивания с электростимуляцией (HstimBDNF-) достоверно снизило содержание α-субъединицы рецептора ГАМК (GABA Aα) в поясничном отделе спинного мозга животных до уровня 43% от значений группы контроля (CSO), при этом не наблюдалось изменения содержания GABA Aα в остальных группах (рисунок 8). Содержание GABA Aβ в поясничном отделе спинного мозга животных при 14-суточном антиортостатическом вывешивании (HSO) статистически значимо увеличилось до уровня 200% от значений группы контроля (CSO), при этом в группах вывешивания с электростимуляцией (Hstim) и с введением ANA-12 на фоне антиортостатического вывешивания и электростимуляции (HstimBDNF-) не наблюдалось отличий от группы «чистого» контроля (рисунок 9).

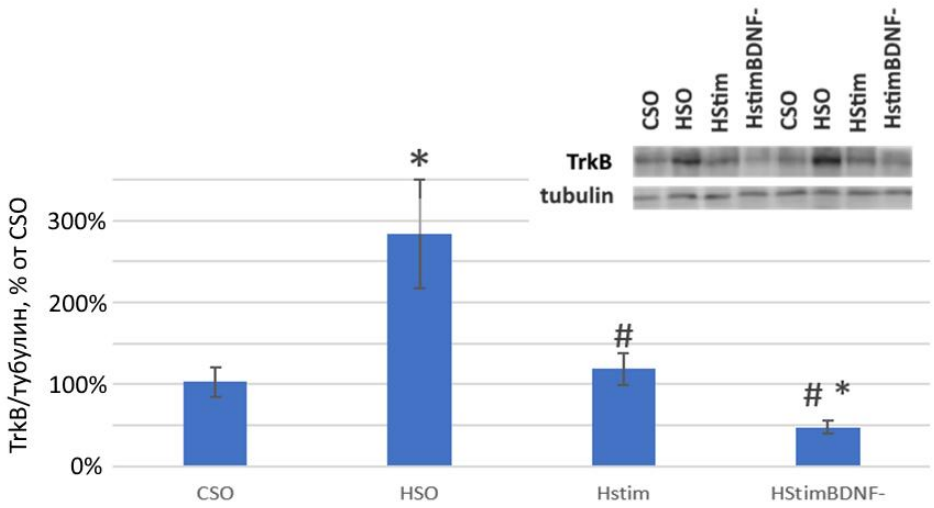


*Рисунок 7. Содержание TRKb в поясничном отделе спинного мозга крысы при 14-суточной электростимуляции с введением и без введения ANA-12. CSO – ложнооперированный виварный контроль; HSO – 14-суточная гравитационная разгрузка с ложной операцией; HStim – 14-суточная гравитационная разгрузка в сочетании с электростимуляцией; HStimBDNF- - электростимуляция в сочетании с введением ANA-12 на фоне 14-суточной гравитационной разгрузки; * -*

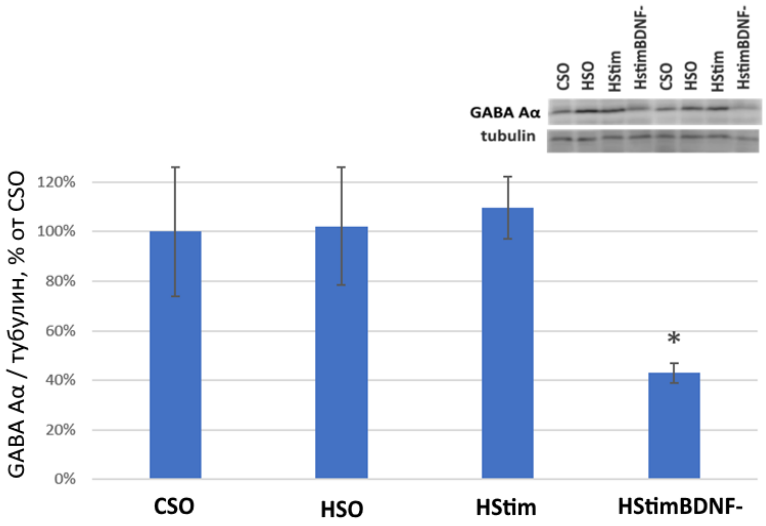


*Рисунок 8. Содержание GABA Aα в поясничном отделе спинного мозга крысы при 14-суточной электростимуляции с введением и без введения ANA-12. CSO – ложнооперированный виварный контроль; HSO – 14-суточная гравитационная разгрузка с ложной операцией; HStim – 14-суточная гравитационная разгрузка в сочетании с электростимуляцией; HStimBDNF- - электростимуляция в сочетании с введением ANA-12 на фоне 14-суточной гравитационной разгрузки; * - статистически значимое отличие от группы контроля.*

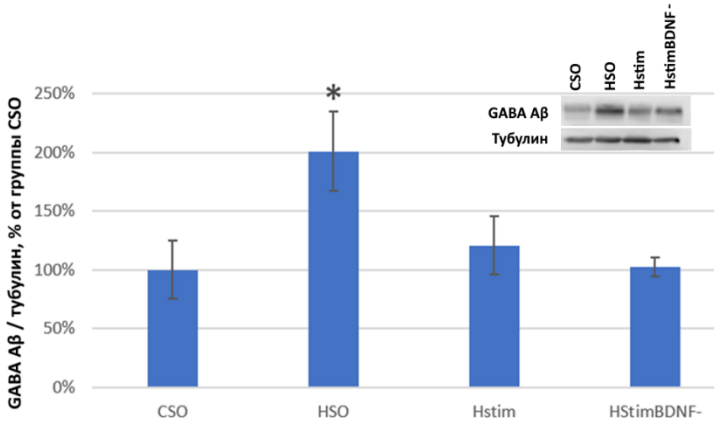


Рисунок 9. Содержание GABA Aβ в поясничном отделе спинного мозга крысы при 14-суточной электростимуляции с введением и без введения ANA-12. CSO – ложнооперированный виварный контроль; HSO – 14*-суточная гравитационная разгрузка с ложной операцией; HStim –* 14*-суточная гравитационная разгрузка в сочетании с электростимуляцией; HStimBDNF- - электростимуляция в сочетании с введением ANA-12 на фоне* 14*-суточной гравитационной разгрузки; * - статистически значимое отличие от группы контроля.*

Внутрибрюшинное введение ANA-12 на фоне антиортостатического вывешивания с электростимуляцией (HstimBDNF-) статистически значимо снизило содержание рецептора ГАМК GABA BR1 в поясничном отделе спинного мозга животных до уровня 61% от значений группы контроля (CSO), при этом не наблюдалось изменения содержания GABA BR1 в остальных группах (рисунок 10).

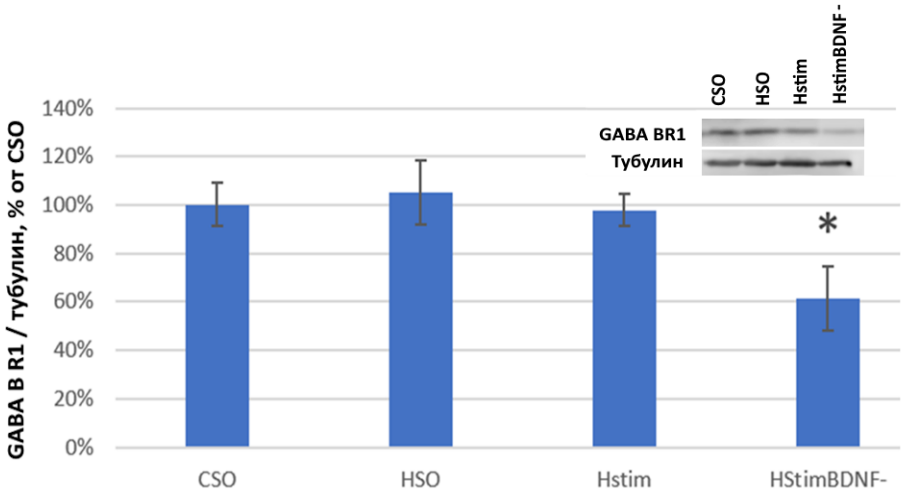


Рисунок 10. Содержание GABA BR1 в поясничном отделе спинного мозга крысы при 14-суточной электростимуляции с введением и без введения ANA-12. CSO – ложнооперированный виварный контроль; HSO – 14*-суточная гравитационная разгрузка с ложной операцией; HStim –* 14*-суточная гравитационная разгрузка в сочетании с электростимуляцией; HStimBDNF- - электростимуляция в сочетании с введением ANA-12 на фоне* 14*-суточной гравитационной разгрузки; * - статистически значимое отличие от группы контроля.*

В ходе 14-суточного антиортостатического вывешивания не обнаружено достоверного изменения содержания в поясничном отделе спинного мозга везикулярного котранспортёра глутамата (VGAT) относительно уровня контроля ни в одной из

исследуемых групп животных (Рисунок 11). В ходе эксперимента не обнаружено достоверного изменения содержания в поясничном отделе спинного мозга глутаматдекарбоксилазы (GAD 65/67) относительно уровня контроля ни в одной из исследуемых групп животных (рисунок 12).

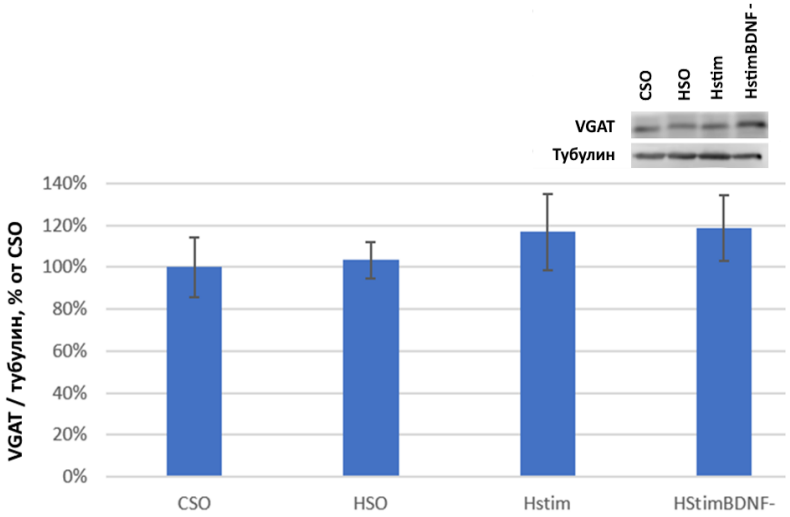


Рисунок 11. Содержание VGAT в поясничном отделе спинного мозга крысы при 14-суточной электростимуляции с введением и без введения ANA-12. CSO – ложнооперированный виварный контроль; HSO – 14*-суточная гравитационная разгрузка с ложной операцией; HStim –* 14*-суточная гравитационная разгрузка в сочетании с электростимуляцией; HStimBDNF- - электростимуляция в сочетании с введением ANA-12 на фоне* 14*-суточной гравитационной разгрузки; * - статистически значимое отличие от группы контроля.*

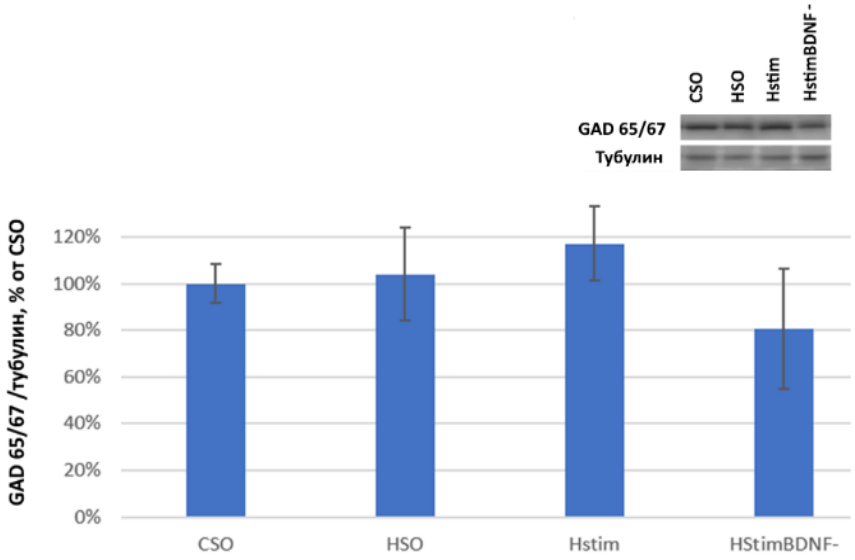


Рисунок 12. Содержание GAD 65/67 в поясничном отделе спинного мозга крысы при 14-суточной электростимуляции с введением и без введения ANA-12. CSO – ложнооперированный виварный контроль; HSO – 14*-суточная гравитационная разгрузка с ложной операцией; HStim –* 14*-суточная гравитационная разгрузка в сочетании с электростимуляцией; HStimBDNF- - электростимуляция в сочетании с введением ANA-12 на фоне* 14*-суточной гравитационной разгрузки; * - статистически значимое отличие от группы контроля.*

Анализ ответов сигнальных путей камбаловидной мышцы крысы при фармакологической блокировке спонтанной электрической активности

В наших экспериментах были проанализированы ответы сигнальных путей камбаловидной мышцы крысы при фармакологической блокировке спонтанной электрической активности на фоне вывешивания. При хроническом введении прохлорперазина, на фоне полного отсутствия сократительной активности были обнаружены парадоксальные изменения маркеров сигнальных путей: предотвращение повышения при разгрузке экспрессии мышечных убиквитин-лигаз – MuRF-1 и Mafbx/atrogin-1 (Рисунок 13) и предотвращение снижения экспрессии рибосомальных РНК (Рисунок 14). При этом у животных со сниженной спонтанной активностью наблюдается снижение степени атрофии медленных и быстрых волокон камбаловидной мышцы (Рисунок 15).

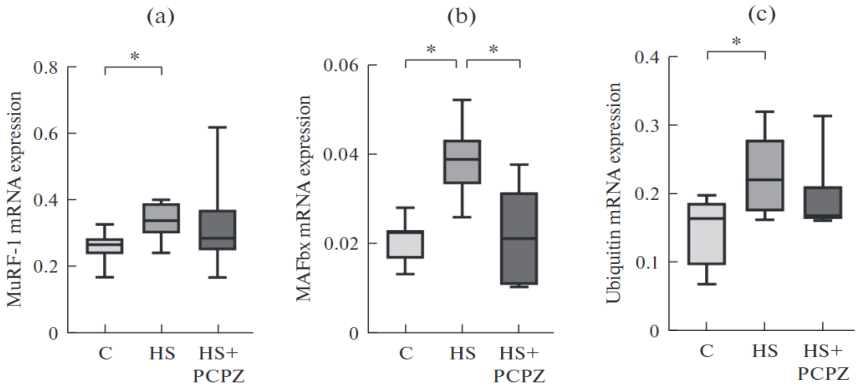


*Рисунок 13. Экспрессия мРНК показателей протеолиза MuRF-1 (a), MAFbx (b) и убиквитина (c) в m. soleus.C – контроль; HS – вывешивание в течение 7 сут; HS + PCPZ – вывешивание в течение 7 сут с ежедневным введением прохлорперазина. * – p < 0.05.*

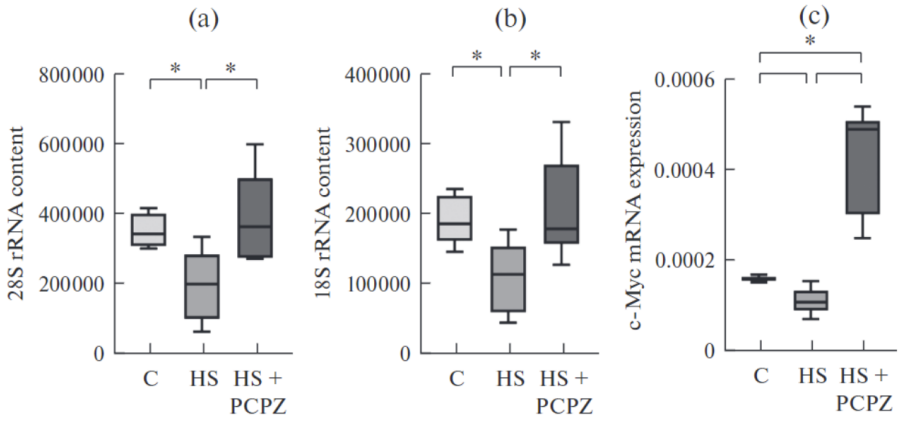


*Рисунок 14. Содержание 28S рРНК (a), содержание 18S рРНК (b) и экспрессия мРНК c-Myc в m. soleus. C –контроль; HS – вывешивание в течение 7 сут; HS + PCPZ – вывешивание в течение 7 сут с ежедневным введением прохлорперазина. * – p < 0.05*

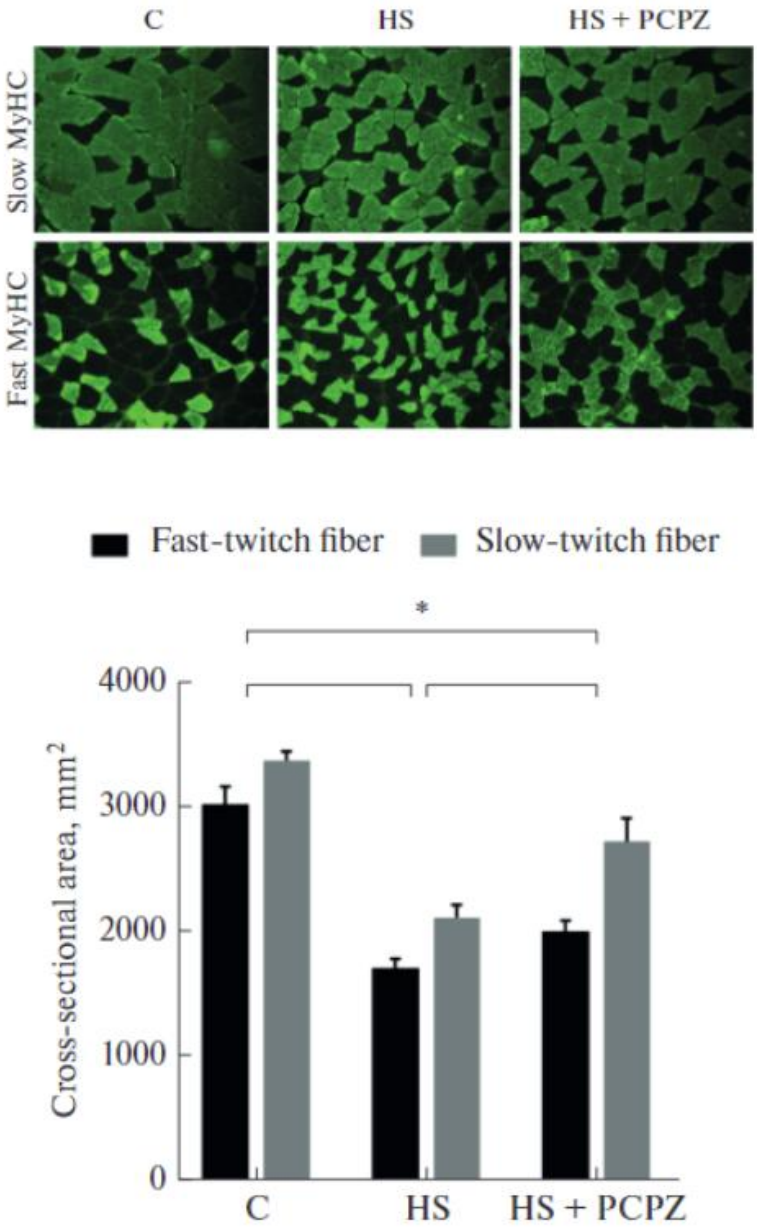


*Рисунок 15. Площадь поперечного сечения (cross-sectional area) быстрых (fast-twitch) и медленных (slow-twitch) волокон m. soleus. C – контроль; HS – вывешивание в течение 7 сут; HS + PCPZ – вывешиваниев течение 7 сут с ежедневным введением прохлорперазина. * – p < 0.05. MyHC (myosin heavy chain) – тяжелые цепи миозина.*

При использовании CLP290 для предотвращения снижения экспрессии KCC2 в поясничном отделе спинного мозга перечисленные эффекты не были обнаружены (Рисунки 16, 17). Также в этом эксперименте не было выявлено изменений размеров медленных и быстрых мышечных волокон и их соотношения (Рисунок 18). В то же время, как при введении прохлорперазина, так и при использовании CLP290, глубокое снижение спонтанной активности сопровождалось еще более глубоким по сравнению с «чистым» вывешиванием снижением экспрессии мРНК ключевого регулятора митохондриального биогенеза PGC1α и некоторых ферментов окислительного фосфорилирования (рисунок 19 А). У животных, у которых спонтанная активность камбаловидной мышцы подавлена под влиянием CLP290, в этой мышце значительно повышен уровень фосфорилирования

рибосомальной киназы p70S6K (рисунок 19 Б). При этом уровень фосфорилирования этого фермента у животных группы «чистого» вывешивания, не демонстрирует достоверных отличий от животных группы виварного контроля.

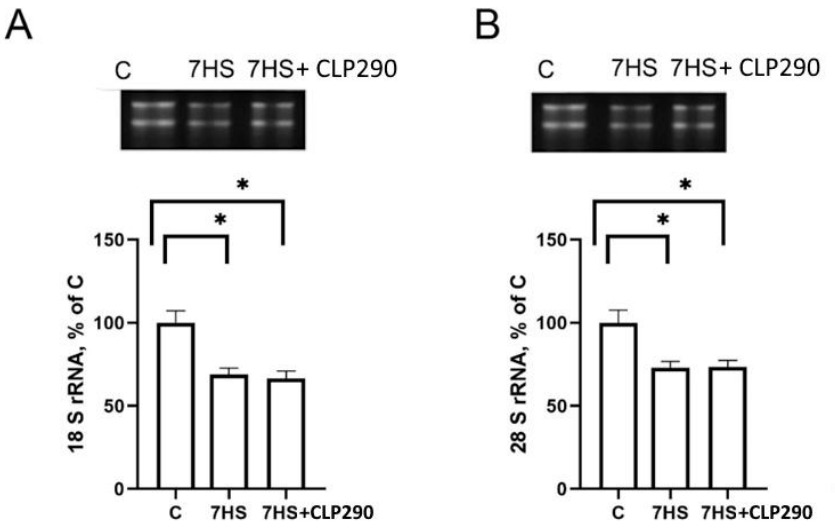


*Рисунок 16. Содержание 18S рРНК (А) и 28S рРНК (В) в камбаловидной мышце экспериментальных животных. Данные представлены в процентах от среднего значения группы С. С— виварный контроль, 7HS—7-суточное антиортостатическое вывешивание, 7HSL—7-суточное антиортостатическое вывешивание с введением CLP-290. *— статистически значимое отличие от группы С.*

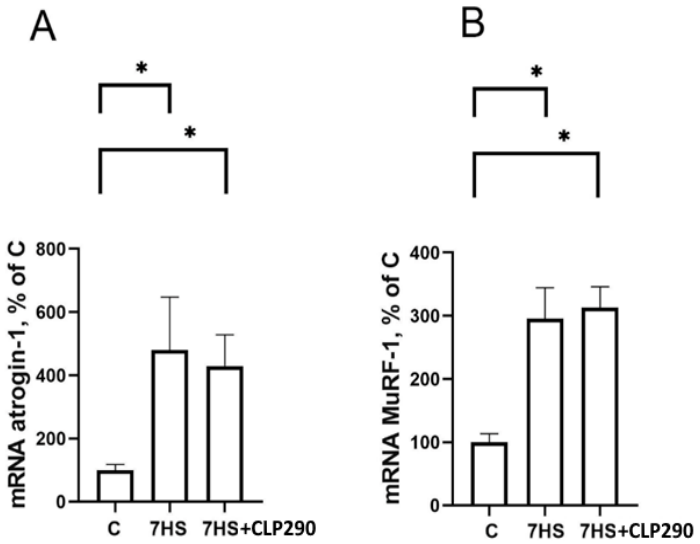


*Рисунок 17. Экспрессия мРНК atrogin-1 (А) и MuRF-1(В) в камбаловидной мышце экспериментальных животных. Данные представлены в процентах от среднего значения группы С. С—виварный контроль, 7HS—7-суточное антиортостатическое вывешивание с введением CLP-290. *— статистически значимое отличие от группы С*

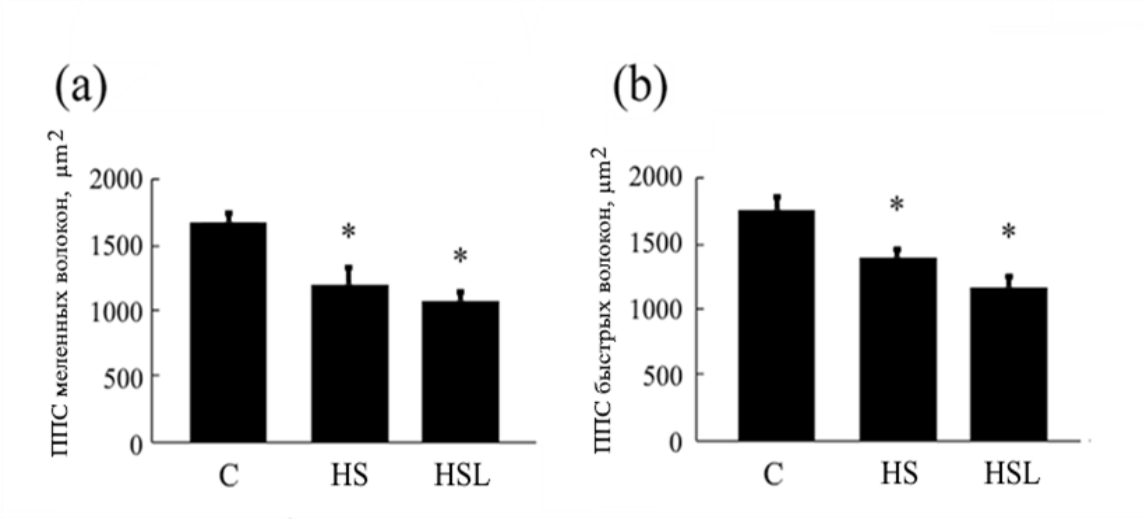


*Рисунок 18. Площадь поперечного сечения медленных (a) и быстрых (b) мышечных волокон в m.soleus крысы. C – контроль; HS –вывешивание 7 дней; HSL – вывешивание + введение CLP 7 дней. * – p < 0.05.*

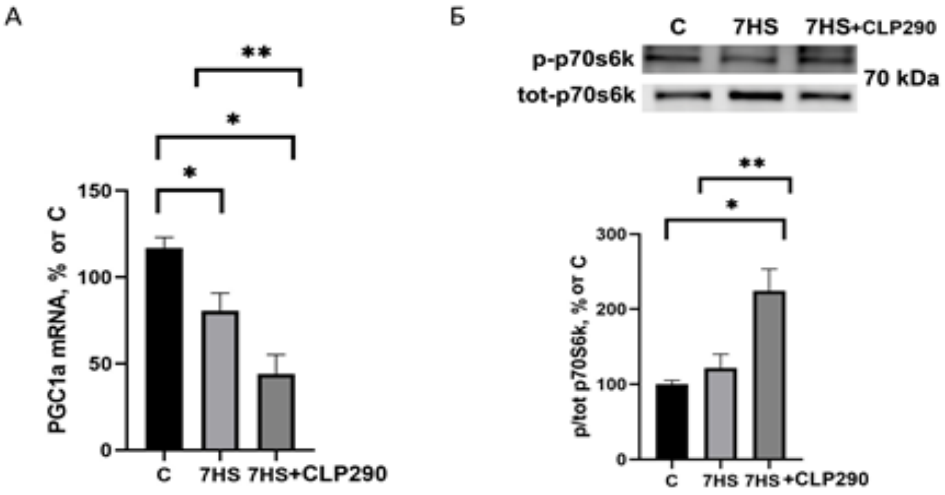


*Рисунок 19. Экспрессия мРНК PGC1α (А) и уровень фосфорилирования p70S6K (Thr389) (Б) в m. soleus крысы при введении CLP290 на фоне 7-суточного антиортостатического вывешивания. C – виварный контроль, 7HS – 7-суточное антиортостатическое вывешивание, 7HS+CLP290 – 7-суточное вывешивание с ежедневным введением CLP290, * – достоверное отличие от контроля (p <0,05), ** – достоверное отличие от группы «7HS» (p <0,05)*

Выводы

1. Гравитационная разгрузка задних конечностей крысы, как и спинальная травма, сопровождается сдвигом баланса мембранных ионных котранспортёров в мотонейронах спинного мозга: снижением содержания калий-хлоридного котранспортёра KCC2 и повышением содержания натрий-калий хлоридного котранспортёра NKCC1.

2. В условиях гравитационной разгрузки в камбаловидной мышце крыс развивается спонтанная активность, амплитуда которой прогрессивно нарастает, достигая к 5-7 суткам 50%, а к 12 суткам — 90% от уровня животных контрольной группы. Фармакологическая коррекция снижения содержания калий-хлоридного котранспортера KCC2 в мотонейронах спинного мозга (при помощи CLP290 или прохлорперазина) сопровождается уменьшением амплитуды спонтанной активности камбаловидной мышцы.

3. Снижение спонтанной ЭМГ-активности камбаловидной мышцы в результате активации KCC2 углубляет изменения регуляторов биогенеза митохондрий, что что свидетельствуют об отсутствии компенсаторной роли спонтанной ЭМГ-активности камбаловидной мышцы при гравитационной разгрузке.

4. Применение хронической низкочастотной электромиостимуляции в условиях функциональной разгрузки задней конечности предотвращает снижение содержания KCC2 в мотонейронах спинного мозга.

5. BDNF-зависимый сигналинг опосредует влияние электромиостимуляции на содержание KCC2; фармакологическое ингибирование BDNF-зависимого сигнального пути приводит к устранению эффектов низкочастотной электростимуляции. Длительная гравитационная разгрузка (14 суток) не вызывает значимых изменений в содержании рецептора GABAA и ключевых ферментов метаболизма ГАМК.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

Статьи в журналах

1. Sharlo K.A., Lvova I.D., Tyganov S.A., Sergeeva K.V., Kalashnikov V.E., Kalashnikova E.P., Mirzoev T.M., Kalamkarov G.R., Shevchenko T.F., Shenkman B.S. A Prochlorperazine-induced decrease in autonomous muscle activity during hindlimb unloading is accompanied by preserved slow myosin mRNA expression. Current issues in molecular biology. №7, Vol. 45, P. 5613-5630; **(Scopus, WOS)**.

2. Сергеева К.В., Шарло К.А., Калашников В.Е., Туртикова О.В., Тыганов С.А., Шенкман Б.С. Влияние спонтанной нервно-мышечной активности на развитие атрофии камбаловидной мышцы в условиях функциональной разгрузки. РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА. том 109, № 10, с. 1430–1442; **(RSCI).**

3. Vitaliy E. Kalashnikov, Sergey A. Tyganov, Olga V. Turtikova, Ekaterina P. Kalashnikova, Margarita V. Glazova,Timur M. Mirzoev, Boris S. Shenkman. Prochlorperazine Withdraws the Delayed Onset Tonic Activity of Unloaded Rat Soleus Muscle: A Pilot Study. Life 2021, 11(11), 1161; https://doi.org/10.3390/life11111161; **(Scopus, WOS)**.

4. Шенкман Б.С., Калашников В.Е., Шарло К.А., Туртикова О.В., Боков Р.О., Мирзоев Т.М. Continuous Use During Disuse: Mechanisms and Effects of Spontaneous Activity of Unloaded Postural Muscle // International Journal of Molecular Sciences, 2024; **(Scopus, WOS)**.

5. Калашников В.Е., Сергеева К.В., Туртикова О.В., Тыганов С.А., Мирзоев Т.М., Шенкман Б.С. Spontaneous Tonic Activity Revealed in Rat Soleus Muscle by CLP290, a Novel Spinal Cord Potassium-Chloride Cotransporter Activator, during Hindlimb Suspension // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 2024; **(Scopus, RSCI)**.

6. Сергеева К.В., Шарло К.А., Тыганов С.А., Калашников С.А., Шенкман Б.С. Molecular Signaling Effects behind the Spontaneous Soleus Muscle Activity Induced by 7-Day Rat Hindlimb Suspension // International Journal of Molecular Sciences, 2024; **(Scopus, WOS)**.

7. Шенкман Б.С., Калашников В.Е., Шарло К.А., Туртикова О.В., Боков Р.О., Мирзоев Т.М. Спонтанная активность постуральной мышцы при функциональной разгрузке. Нейрональные механизмы и сигнальные эффекты // Авиакосмическая и экологическая медицина, 2024; **(Scopus)**.

Тезисы конференций

1. Калашников В.Е., Тыганов С.А., Туртикова О.В., Калашникова Е.П., Глазова М.В., Шенкман Б.С. МЕХАНИЗМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ОТСТАВЛЕННОЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОТОНЕЙРОНОВ В УСЛОВИЯХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКИ КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЫ КРЫСЫ. СБОРНИК ТЕЗИСОВ IX Российской, с международным участием, конференции по управлению движением, посвященной 95-летию со дня рождения И. Б. Козловской. стр.64.

2. Б. С. Шенкман. ТОНИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОСТУРАЛЬНОЙ МЫШЦЫ И ГРАВИТАЦИОННО-ЗАВИСИМЫЙ КОНТРОЛЬ ЕЕ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ. В РАЗВИТИЕ ИДЕЙ ШКОЛЫ И. Б. КОЗЛОВСКОЙ. СБОРНИК ТЕЗИСОВ IX Российской, с международным участием, конференции по управлению движением, посвященной 95-летию со дня рождения И. Б. Козловской. стр.19

3. Б.С. Шенкман, В.Е. Калашников, С.А. Тыганов, К.А. Шарло, И.Д. Львова. Автономная тоническая активность постуральной мышцы в условиях безопорности: компенсация или углубление атрофии? Сборнике тезисов III Объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов, VII Съезд физиологов СНГ, Научная сессия физиологического общества имени И.П. Павлова, VII съезд биохимиков России, X Российский симпозиум «Белки и пептиды». Том 3, С. 103.

4. Шарло К.А., Тыганов С.А., Сергеева К.В., Львова И.Д., Шенкман Б.С. Влияние введения прохлорперазина на ряд молекулярных регуляторов в камбаловидной мышце на фоне функциональной разгрузки. Тезисы всероссийской конференции "Интегративная физиология-2022". Стр. 92.

5. Шенкман Б.С. Роль тонической активности в контроле сигнальных процессов в постуральной мышце. Тезисы всероссийской конференции "Интегративная физиология-2022". Стр. 8.

6. Калашников В.Е., Туртикова О.В., Тыганов С.А., Сергеева К.В., Шенкман Б.С. Спинальные механизмы спонтанной тонической активности постуральной мышцы в условиях моделируемой гравитационной разгрузки. XI Всероссийская с международным участием школа-конференция по физиологии мышц и мышечной деятельности, посвященная 70-летию открытия механизма мышечного сокращения. 22–25 апреля 2024 года, Москва.

7. Mirzoev T.M., Kalashnikov V.E., Sharlo K.A., Turtikova O.V., Sergeeva K.V., Shenkman B.S. Spinal mechanisms triggering the spontaneous tonic activity of the postural soleus muscle under

hindlimb unloading. The 43rd Annual International Society for Gravitational Physiology (ISGP) Meeting 26–31 мая 2024 года, Дубаи, ОАЭ

8. Шенкман Б.С., Калашников В.Е., Тыганов С.А., Боков Р.О., Шарло К.А., Сергеева К.В., Туртикова О.В., Мирзоев Т.М. Спонтанная активность постуральной мышцы в условиях безопорности. Спинальные механизмы и сигнальные последствия. Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Учение академика И.П. Павлова в современной системе нейронаук», посвящённая 175-летию со дня рождения академика И.П. Павлова и 120-летию со дня вручения академику И.П. Павлову Нобелевской премии. 18–20 сентября 2024 года, Санкт-Петербург.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бородина К. М., Затолокина М. А., Созыкин А. А., Цымбалюк В. В., Шматько И. А., Затолокина Е. С., Банченко Д. А. К вопросу об особенностях топографии и морфометрии седалищного нерва крысы // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2021. – № 3 (79). – С. 159–163.

2. Akhter E. T., Griffith R. W., English A. W., Alvarez F. J. Removal of the Potassium Chloride Co-Transporter from the Somatodendritic Membrane of Axotomized Motoneurons Is Independent of BDNF/TrkB Signaling but Is Controlled by Neuromuscular Innervation // eNeuro. 2019. V.6. P.ENEURO.0172-19.2019.

3. Alford E. K., Roy R. R., Hodgson J. A., Edgerton V. R. Electromyography of rat soleus, medial gastrocnemius, and tibialis anterior during hind limb suspension // Experimental Neurology. 1987. V.96. P.635–649.

4. Boulenguez P. et al. Down-regulation of the potassium-chloride cotransporter KCC2 contributes to spasticity after spinal cord injury // Nature Medicine. 2010. V.16. №3. P.302-7.

5. Canon F., Goubel F., Guezennec C. Effects of chronic low frequency stimulation on contractile and elastic properties of hindlimb suspended rat soleus muscle // European Journal of Applied Physiology. – 1997. – Vol. 77. – P. 118–124.

6. De-Doncker L., Kasri M., Picquet F., Falempin M. Physiologically adaptive changes of the L5 afferent neurogram and of the rat soleus EMG activity during 14 days of hindlimb unloading and recovery // Journal of Experimental Biology. 2005. V.208. P.4585–4592.

7. Edgerton V. R., Roy R. R. Spasticity: A switch from inhibition to excitation // Nature Medicine. 2010. V.16. P.270–271.

8. Kawano F., Ishihara A., Stevens J. L., Wang X. D., Ohshima S., Horisaka M., Maeda Y., Nonaka I., Ohira Y. Tension- and afferent input-associated responses of neuromuscular system of rats to hindlimb unloading and/or tenotomy // American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2004. V.287. P.R76–R86.

9. Nair A. B., Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human // Journal of Basic and Clinical Pharmacy. 2016. V.7. P.27–31.