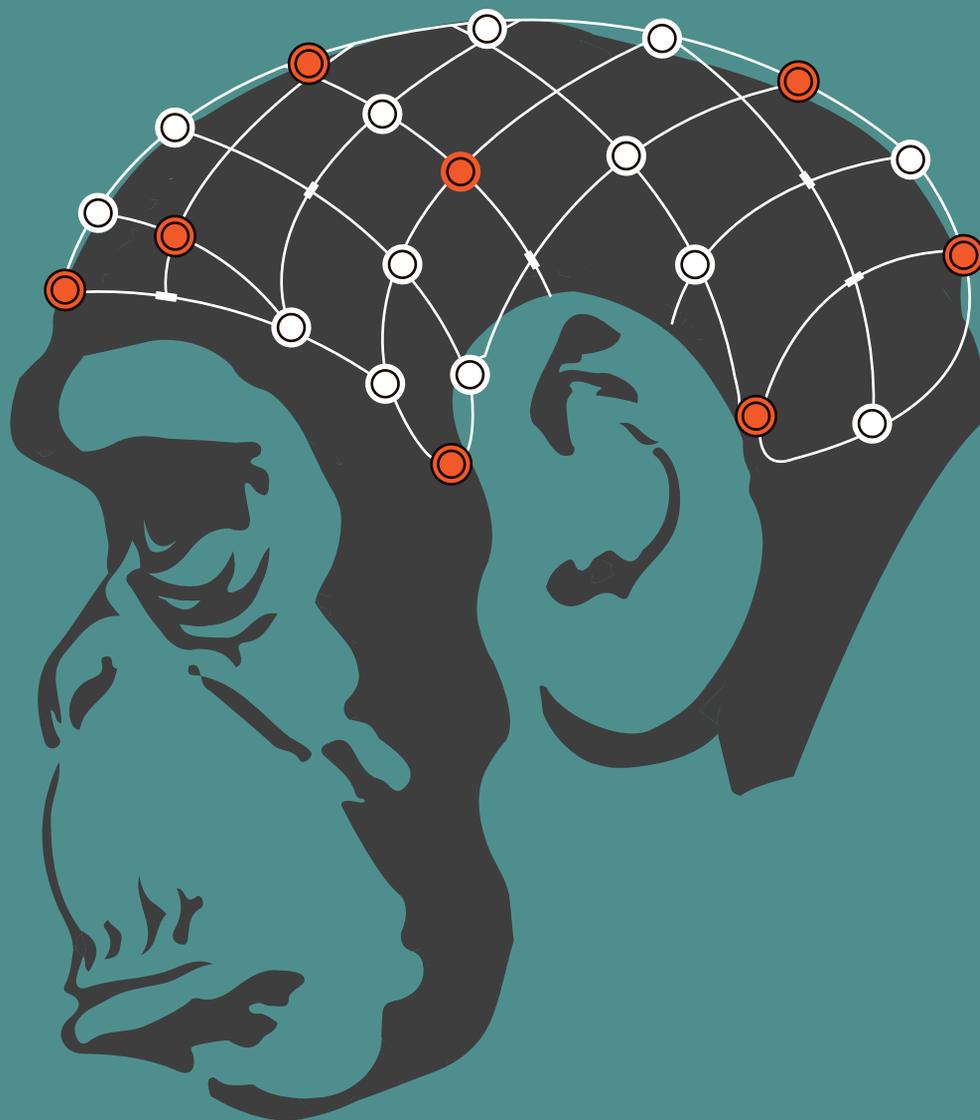


# ВЕСТНИК РГМУ

МАРТ-АПРЕЛЬ 2016 (2) ISSN 2070-7320

VESTNIKRGMU.RU



## НЕЙРОИНТЕРФЕЙСЫ ОБЗОР

**СТАТЬЯ** Нейронные сети *in vitro*

Показан возможный механизм формирования памятного следа в культуре нейронов

45

**КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ** Рак почки

Лапароскопия подковообразной почки по поводу почечноклеточного рака

55

# ВЕСТНИК РОССИЙСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Научный медицинский журнал Российского национального  
исследовательского медицинского университета  
имени Н. И. Пирогова

BULLETIN OF RUSSIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Scientific Medical Journal of Pirogov Russian National  
Research Medical University

## Главный редактор

Editor-in-chief

**Денис Ребриков, д. б. н.**

Denis Rebrikov, DSc

## Заместитель главного редактора

Deputy editor-in-chief

**Александр Эттингер, д. м. н.**

Alexander Oettinger, DSc

## Руководитель редакции

Editorial manager

**Елена Куликова**

Elena Kulikova

## Редакторы

Editors

**Лилия Егорова**

Liliya Egorova

**Дмитрий Зубаков, к. б. н.**

Dmitry Zubakov, CSc

**Иван Лягоскин, к. б. н.**

Ivan Lyagoskin, CSc

**Айарпи Ездоглян**

Ayarpi Ezdoglyan

## Корректор

Proof-reader

**Ольга Комар**

Olga Komar

## Переводчики

Translators

**Екатерина Третьякова**

Ekaterina Tretiyakova

**Энтони Нвохири, к. т. н.**

Anthony Nwohiri, PhD

## Дизайн и верстка

Design and layout

**Марина Доронина**

Marina Doronina

Журнал входит в Перечень ведущих научных  
журналов и изданий ВАК.

Журнал доступен в Google Scholar.

IF РИНЦ 2014: 0,139.

Номер подписан в печать 25.04.2016

Адрес редакции: 117997, г. Москва,  
ул. Островитянова, д. 1.

Для подачи публикаций: editor@vestnikrgmu.ru

По вопросам сотрудничества: manager@vestnikrgmu.ru

## Редакционная коллегия

Editorial board

**Г. П. Арутюнов, д. м. н.**

G. P. Arutyunov, DSc

**Ю. В. Балякин, д. м. н.**

Yu. V. Balyakin, DSc

**М. Р. Богомилский\*, д. м. н.**

M. R. Bogomilskiy, DSc

**Л. В. Ганковская, д. м. н.**

L. V. Gankovskaya, DSc

**Ю. Э. Доброхотова, д. м. н.**

Yu. E. Dobrokhotova, DSc

**Л. И. Ильенко, д. м. н.**

L. I. Ilyenko, DSc

**О. А. Кисляк, д. м. н.**

O. A. Kislyak, DSc

**В. И. Лапочкин, д. м. н.**

V. I. Lapochkin, DSc

**А. В. Матюшкин, д. м. н.**

A. V. Matyushkin, DSc

**А. Г. Пашинян, д. м. н.**

A. G. Pashinyan, DSc

\* член-корреспондент РАН

corresponding member of RAS

## Редакционный совет

Editorial council

**Е. И. Гусев, академик РАН, д. м. н.**

E. I. Gusev, member of RAS, DSc

**И. И. Затевахин, академик РАН, д. м. н.**

I. I. Zatevakhin, member of RAS, DSc

**Ю. Ф. Исаков, академик РАН, д. м. н.**

Yu. F. Isakov, member of RAS, DSc

**Ю. М. Лопухин, академик РАН, д. м. н.**

Yu. M. Lopukhin, member of RAS, DSc

**С. Б. Петерсон, д. м. н.**

S. B. Peterson, DSc

**Н. В. Полунина\*, д. м. н.**

N. V. Polunina, DSc

**Б. А. Поляев, д. м. н.**

B. A. Polyayev, DSc

**Г. В. Порядин\*, д. м. н.**

G. V. Poryadin, DSc

**Н. Г. Потешкина, д. м. н.**

N. G. Poteshkina, DSc

**С. В. Свиридов, д. м. н.**

S. V. Sviridov, DSc

**А. В. Скороглядов, д. м. н.**

A. V. Skoroglyadov, DSc

**В. А. Стаханов, д. м. н.**

V. A. Stakhanov, DSc

**Е. В. Старых, д. м. н.**

E. V. Starykh, DSc

**И. З. Шишков, д. ф. н.**

I. Z. Shishkov, DSc

**Г. М. Савельева, академик РАН, д. м. н.**

G. M. Savelyeva, member of RAS, DSc

**Ю. К. Скрипкин, академик РАН, д. м. н.**

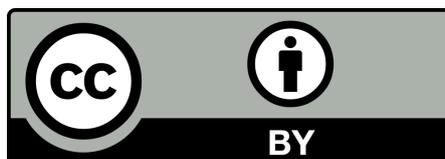
Yu. K. Skripkin, member of RAS, DSc

**В. И. Стародубов, академик РАН, д. м. н.**

V. I. Starodubov, member of RAS, DSc

**А. И. Федин, д. м. н.**

A. I. Fedin, DSc



### СОДЕРЖАНИЕ

#### CONTENTS

<b>ОБЗОР</b>	<b>Интерфейс мозг–компьютер: будущее в настоящем</b> О. С. Левицкая, М. А. Лебедев <b>Brain-computer interface: the future in the present</b> Levitskaya OS, Lebedev MA	<b>4</b>
<b>СТАТЬЯ</b>	<b>Предварительные результаты контролируемого исследования эффективности технологии ИМК–экзоскелет при постинсультном парезе руки</b> А. А. Фролов, О. А. Мокиенко, Р. Х. Люкманов, Л. А. Черникова, С. В. Котов, Л. Г. Турбина, П. Д. Бобров, Е. В. Бирюкова, А. А. Кондур, Г. Е. Иванова, А. Н. Старицын, Ю. В. Бушкова, И. З. Джалагония, М. Е. Курганская, О. Г. Павлова, С. Ю. Будилин, Г. А. Азиатская, А. Е. Хижникова, А. В. Червяков, А. Л. Лукьянов, Г. Г. Надарейшвили <b>Preliminary results of a controlled study of BCI-exoskeleton technology efficacy in patients with poststroke arm paresis</b> Frolov AA, Mokienko OA, Lyukmanov RKh, Chernikova LA, Kotov SV, Turbina LG, Bobrov PD, Biryukova EV, Kondur AA, Ivanova GE, Staritsyn AN, Bushkova YuV, Dzhalagoniya IZ, Kurganskaya ME, Pavlova OG, Budilin SYu, Aziatskaya GA, Khizhnikova AE, Chervyakov AV, Lukyanov AL, Nadareyshvily GG	<b>17</b>
<b>СТАТЬЯ</b>	<b>Изучение возможности управления отдельными пальцами фантома кисти руки человека в контуре интерфейса мозг–компьютер на волне P300</b> А. Я. Каплан, Д. Д. Жигульская, Д. А. Кирьянов <b>Studying the ability to control human phantom fingers in P300 brain-computer interface</b> Kaplan AYa, Zhigulskaya DD, Kiriyanov DA	<b>26</b>
<b>СТАТЬЯ</b>	<b>Разработка нейроустройства с биологической обратной связью для восполнения утраченных двигательных функций</b> Е. А. Богданов, В. А. Петров, С. А. Ботман, В. В. Сапунов, В. А. Ступин, Е. В. Силина, Т. Г. Синельникова, М. В. Патрушев, Н. Н. Шушарина <b>Development of a neurodevice with a biological feedback for compensating for lost motor functions</b> Bogdanov EA, Petrov VA, Botman SA, Sapunov VV, Stupin VA, Silina EV, Sinelnikova TG, Patrushev MV, Shusharina NN	<b>31</b>
<b>МЕТОД</b>	<b>Улучшение работы интерфейса глаз–мозг–компьютер при использовании частотных компонентов ЭЭГ</b> С. Л. Шишкин, Б. Л. Козырский, А. Г. Трофимов, Ю. О. Нуждин, А. А. Федорова, Е. П. Свирин, Б. М. Величковский <b>Improving eye-brain-computer interface performance by using EEG frequency components</b> Shishkin SL, Kozyrskiy BL, Trofimov AG, Nuzhdin YO, Fedorova AA, Svirin EP, Velichkovsky BM	<b>39</b>
<b>СТАТЬЯ</b>	<b>Устойчивость спонтанной электрической активности нейронных сетей <i>in vitro</i></b> И. С. Соколов, М. К. Татаринцев, Р. Ю. Хасанов, А. М. Азиева, Е. Ю. Макаренко, М. С. Бурцев <b>Stability of spontaneous electrical activity of neural networks <i>in vitro</i></b> Sokolov IS, M Tatarintsev MK, Khasanov RY, Azieva AM, Makarenko EYu, Burtsev MS	<b>45</b>
<b>СТАТЬЯ</b>	<b>Исследование гладкости абляционной поверхности и термических процессов в роговице кролика при работе эксимерлазерных установок «МикроСкан-Визум» и «МикроСкан-ЦФП»</b> Г. Ф. Качалина, Н. Х. Тахчиди <b>Study of ablated surface smoothness and thermal processes in rabbit cornea treated with MicroScan-Visum and MicroScan-PIC excimer laser systems</b> Kachalina GF, Takhchidi NCh	<b>50</b>

<b>СЛУЧАЙ</b>	<b>Лапароскопическая резекция подковообразной почки по поводу почечноклеточного рака</b> А. Г. Мурадян, Н. В. Воробьев, А. А. Костин, А. О. Толкачев, Н. Н. Волченко, С. В. Попов, И. С. Мамонтова <b>Laparoscopic resection of the horseshoe kidney for renal cell carcinoma</b> Muradyan AG, Vorobyev NV, Kostin AA, Tolkachev AO, Volchenko NN, Popov SV, Mamontova IS	<b>55</b>
<b>СТАТЬЯ</b>	<b>Валидизация шкал MFTS и AQSA у больных с переломами костей стопы в составе множественной и сочетанной травмы</b> М. А. Королёв, Д. О. Ярмак, Е. А. Мирошникова, Г. В. Коробушкин <b>MFTS and AQSA scales validation in patients with multiple and concomitant foot fractures</b> Korolev MA, Yarmak DO, Miroshnikova SA, Korobushkin GV	<b>60</b>
<b>МЕТОД</b>	<b>Хемилюминесцентная методика определения общей антиоксидантной емкости в лекарственном растительном сырье</b> Г. К. Владимиров, Е. В. Сергунова, Д. Ю. Измайлов, Ю. А. Владимиров <b>Chemiluminescent determination of total antioxidant capacity in medicinal plant material</b> Vladimirov GK, Sergunova EV, Izmaylov DYU, Vladimirov YUA	<b>65</b>

## ИНТЕРФЕЙС МОЗГ–КОМПЬЮТЕР: БУДУЩЕЕ В НАСТОЯЩЕМ

О. С. Левицкая<sup>1</sup>✉, М. А. Лебедев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ООО Cyber Myonics, Москва

<sup>2</sup>Отдел нейробиологии,  
Университет Дьюка, Дарем, Северная Каролина, США

Интерфейс мозг–компьютер (ИМК) — одна из самых многообещающих технологий в области лечения неврологических заболеваний и травм. ИМК позволяет установить связь между неповрежденными участками мозга и протезами отсутствующих конечностей, носимыми нейропротезами, инвалидными креслами, искусственными органами чувств и другими устройствами, компенсирующими утраченные функции. В настоящее время ИМК быстро развиваются благодаря бурному росту вычислительных мощностей, робототехники, методов записи сигналов мозга и математических алгоритмов для их декодирования. Принято классифицировать ИМК на моторные (воспроизводящие движения), сенсорные (чувствительные) и двунаправленные (сенсорномоторные). Существуют также интерфейсы, интерпретирующие или воздействующие на высшие нервные функции. По степени проникновения в биологические ткани организма выделяют инвазивные (глубоко проникающие) и неинвазивные (взаимодействующие лишь с поверхностью тела, но не проникающие) ИМК. Неинвазивные ИМК безопаснее и проще в использовании, но имеют ограничения по пропускной способности сигнала. Инвазивные же благодаря непосредственному контакту мультиэлектродных матриц с нейронными ансамблями без зашумления и дополнительных фильтрующих барьеров позволяют считывать сигналы в высоком разрешении и локально стимулировать нервную ткань для передачи сигналов обратной связи в мозг. Технологии ИМК разрабатываются не только для индивидуального пользования, но и для выполнения коллективных задач при помощи мозгосетей.

**Ключевые слова:** интерфейс мозг–компьютер, нейронная сеть, нейрональная активность, нейрональное декодирование, нейропластичность мозга, электроэнцефалограмма, функциональная электростимуляция, кохлеарный имплантат, зрительный протез

✉ Для корреспонденции: Ольга Сергеевна Левицкая  
123060, г. Москва, ул. Маршала Бирюзова, д. 30, кв. 45; olia\_levits@mail.ru

Статья получена: 11.03.2016 Статья принята в печать: 25.03.2016

## BRAIN-COMPUTER INTERFACE: THE FUTURE IN THE PRESENT

Levitskaya OS<sup>1</sup>✉, Lebedev MA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cyber Myonics, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Department of Neurobiology,  
Duke University, Durham, North Carolina, USA

Brain-computer interfaces (BCIs) are a promising technology intended for the treatment of diseases and trauma of the nervous system. BCIs establish a direct connection between the brain areas that remain functional and assistive devices, such as powered prostheses and orthoses for the arms and legs, motorized wheelchairs, artificial sensory organs and other technologies for restoration of motor and sensory functions. BCIs of various kinds are currently developing very rapidly, aided by the progress in computer science, robotic applications, neurophysiological techniques for recording brain activity and mathematical methods for decoding neural information. BCIs are often classified as motor BCIs (the ones that reproduce movements), sensory BCIs (the ones that evoke sensations), sensorimotor BCIs (the ones that simultaneously handle motor and sensory functions), and cognitive BCIs intended to regulate the higher brain functions. All these BCI classes can be either invasive (i. e. penetrating the body and/or the brain) or noninvasive (i.e. making no or little contact with the body surface). Noninvasive BCI are safe to use and easy to implement, but they suffer from signal attenuation by scalp and skin, its contamination with noise and artifacts, and an overall low information transfer rate. Invasive BCIs are potentially more powerful because they utilize implanted grids that can both record neural signals in high-resolution and apply stimulation to the nervous tissue locally to deliver information back to the brain. BCI technologies are being developed not only for individual use, but also for collective tasks performed by multiple interconnected brains.

**Keywords:** brain-computer interface, neuronal network, neuronal activity, neuronal decoding algorithm, neuronal plasticity of brain, encephalogram, functional electrical stimulation, cochlear implant, visual prosthesis

✉ Correspondence should be addressed: Olga Levitskaya  
ul. Marshala Biryuzova, d. 30, kv. 45, Moscow, Russia, 123060; olia\_levits@mail.ru

Received: 11.03.2016 Accepted: 25.03.2016

Все формы ментальной активности в конечном счете реализуются в виде мышечных сокращений, что позволяет нам взаимодействовать с внешним миром и общаться

друг с другом: мышцы контролируют движения губ и глаз, выражение лица и формирование речи. Мышечные сокращения — неотъемлемая часть и сенсорных функций,

например тактильных и кинестетических ощущений, для которых необходимы движения рук, и зрения, осуществляемого подвижными глазами.

Движения нашего тела отслеживаются большим количеством сенсорных рецепторов. Входящий поток сенсорных и моторных сигналов обрабатывается на разных уровнях нервной системы, включая высшие отделы мозга. Детали процесса обработки входящих сигналов, как правило, минуя наше сознание, и мы принимаем как должное то, что нам удастся выполнять очень сложные задачи: ходить прямо, поддерживать равновесие, двигать пальцами, говорить и многое другое.

К сожалению, способность двигаться и ощущать может быть нарушена в результате повреждения нервной системы. Миллионы людей по всему миру страдают от сенсорных и моторных расстройств, вызванных переломами позвоночника, инсультом, болезнью Паркинсона, амиотрофическим латеральным склерозом и другими патологиями. Зачастую высшие отделы мозга всё-таки сохраняют свою функциональность, но оказываются отрезанными от мышц, и в результате пациент не может двигаться, говорить или чувствовать.

Для множества моторных и сенсорных нарушений не существует эффективных методов лечения. Пациенты оказываются прикованными к постелям или инвалидным креслам до конца своей жизни. Разработка действенных методов реабилитации или устройств, восполняющих недостающие функции, — одна из важнейших задач современной медицины.

### Искусственные части для нервной системы

Интерфейс мозг-компьютер (ИМК) — перспективное средство лечения многих неврологических патологий. В его основу положен принцип создания связей между неповрежденными участками мозга и вспомогательными устройствами, которые способны компенсировать моторные и сенсорные функции [1–5]. Например, пациенты, парализованные из-за перелома позвоночника, смогут восстановить подвижность, используя ИМК, который соединяет нейронные структуры моторной коры с роботизированными руками, экзоскелетами или нейроморфными электрогенераторами. Определенные успехи в разработке таких ИМК уже достигнуты [6–9]. Более того, пациенты могут надеяться на восстановление чувствительности парализованных участков тела при помощи сенсорных ИМК, соединяющих соматосенсорные отделы нервной системы с протезами, оснащенными датчиками прикосновения и положения и вызывающими ощущения посредством электрической стимуляции коры.

ИМК не только помогают больным, но могут использоваться и здоровыми людьми, например в компьютерных играх [10] или в качестве будильника для водителей-дальнобойщиков [11]. В последнем случае состояние наступающего сна распознается по электроэнцефалограмме (ЭЭГ).

ИМК также часто называют ИММ — интерфейс мозг-машина. В целом эти термины взаимозаменяемы, но сложилась традиция называть неинвазивные интерфейсы термином ИМК, а инвазивные — ИММ. Также в качестве их синонимов используют термины «нейропротез» и «нейроимплант». В статье мы используем термин ИМК.

Интерфейсы мозг-компьютер — одна из тех областей знания, в которой разрыв между научной фантастикой и практическим воплощением идеи не превышает 50 лет.

Однако хотя количество публикаций по теме за последние годы возросло, многие ИМК-технологии до сих пор находятся на стадии лабораторной разработки, не используются в клинической практике и не поступают в розничную продажу. Исключение составляют некоторые мионические нейроморфные системы [12] и кохлеарные имплантаты [13, 14], уже сейчас успешно используемые в реабилитационной практике.

В обзоре мы разбираем моторные и сенсорные ИМК. Деление функций на сенсорные и моторные, впрочем, довольно условно. В мозге любого организма участков, отвечающих исключительно за движение или ощущение, не существует [15, 16]. Поэтому недавно разработанные сенсорномоторные интерфейсы являются наиболее эргономичными [17].

### История исследований и создание ИМК

Уже в середине 1960-х гг. проводились эксперименты на обезьянах, которым имплантировали мультиэлектродные матрицы для регистрации потенциалов коры и электрической стимуляции [15, 18]. Было показано, что сенсомоторная кора активировалась, когда обезьяны производили движения, а электростимуляция коры, наоборот, вызывала сокращение мышц.

В 1963 г. Walter провел эксперимент, в котором был реализован первый ИМК в том смысле, как мы его понимаем теперь [19]. Пациентам по медицинским показаниям были имплантированы электроды в различные области коры мозга. Им предлагалось переключать слайды проектора, нажимая на кнопку. Обнаружив область коры, ответственную за воспроизведение этого мышечного паттерна, исследователь подключил ее напрямую к проектору. Пациенты нажимали на отсоединенную кнопку, но слайды продолжали переключаться: управление осуществлялось непосредственно мозгом, причем даже быстрее, чем человек успевал нажать на кнопку.

Идею, сходную с идеей современных ИМК, сформулировали в конце 1960-х гг. ученые из Национального института здоровья США (National Institute of Health), которые заявили, что основным направлением их исследований будет разработка принципов и методов управления внешними устройствами с использованием сигналов мозга [20]. Исследователи имплантировали обезьянам в моторную область коры электроды, которые регистрировали потенциалы действия нескольких нейронов в то время, как животные двигали кистью [21]. Записанные разряды нейронов преобразовывали в траекторию движения кисти с помощью линейной регрессии. Потребовалось еще десять лет исследований, чтобы осуществить такое преобразование в реальном времени: обезьяна обучилась управлять курсором на экране, активируя нейроны моторной коры [22].

Похожим исследованием руководил в то же время Fetz [23], но акцент был сделан на изучение биологической обратной связи, и перед учеными стоял вопрос: сможет ли обезьяна управлять разрядами своих нейронов произвольно? Выяснилось, что произвольное управление активностью ответственных за движения нейронов возможно даже и без совершения движений. Этот результат важен для понимания работы «зеркальных нейронов» и нейронов, задействованных в механизме эмпатии.

Одновременно с разработкой моторных ИМК исследователи создавали сенсорные интерфейсы [14]. В 1957 г. французским ученым Djourno и Eyriès удалось при

помощи одноканального электрода, стимулировавшего слуховой нерв, вызвать звуковые ощущения у глухих. В 1964 г. Simmons представил многоканальный вариант изобретения. В 1970-х гг. House и Urban назвали устройство, состоящее из звукопреобразователя и многоканального электрода, кохлеарным имплантатом. Разработка получила одобрение Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration). После дальнейших усовершенствований кохлеарный имплантат был успешно внедрен в клиническую практику.

В 1980-х гг. начались исследования, направленные на восстановление зрения при помощи ИМК. Полностью слепым в зрительную кору имплантировали электродную матрицу. Вызываемые зрительные ощущения — своеобразные нейроэлектрофотопиксели — были названы фосфенами. Давно или вообще никогда не видевшие света люди научились распознавать несложные узоры из фосфенов [24, 25]. В настоящее время электросимуляционное зрение внедряется в клиническую практику: достаточно сложное изображение с видеокамеры (одной или нескольких) передается на нейроимпланты глаза или зрительной коры.

Бурный скачок ИМК-исследований пришелся на 1990–2000-е гг. Nicoletis и Charin сконструировали ИМК, управлявший механическими конечностями [26]. Записанную у крыс в состоянии бодрствования активность коры и базальных ганглиев передавали на робот, который доставлял животному воду. Затем Nicoletis продолжил изыскания на приматах. Это направление исследований было реализовано в ряде проектов: контролируемая корковыми ансамблями роботизированная рука [27–29], ИМК искусственной тактильной обратной связи [17], ИМК для распознавания движений ног [30], ИМК для бимануальных движений [31] и другие.

В эти же годы начались эксперименты по имплантации электродов в мозг человека. Kennedy (в 2015 г. он имплантировал электроды самому себе) работал с пациентом с боковым амиотрофическим синдромом. В кору пациента был помещен электрод, впрыскивавший факторы роста миелиновых волокон через специальный наконечник. Имплантат позволил пациенту генерировать бинарный командный сигнал [32].

В начале 2000-х гг. несколько лабораторий начали конкурировать друг с другом в области разработки инвазивных ИМК. Группа под руководством Donoghue работала с обезьянами и людьми, в частности исследователи имплантировали мультиэлектродные матрицы в моторную кору человека, что позволяло парализованным людям управлять курсором [8] и роботизированными манипуляторами [9]. Schwartz и его коллеги изучали на обезьянах управление движениями в трехмерном пространстве [33]. В опыте с участием людей им удалось добиться максимального контроля в управлении антропоморфной роботизированной рукой [7] — пожалуй, это до сих пор наиболее продвинутая технология в этой области.

В процессе разработки ИМК Andersen, Shenoy и Vaadia, изучавшие различные участки коры в качестве источников сигналов для ИМК, создали новые оригинальные алгоритмы декодирования сигналов мозга.

Одновременно велись исследования и по неинвазивным нейроинтерфейсам, в основу которых были положены запись ЭЭГ, инфракрасная оксиметрия мозга и функциональная электростимуляция. Были предложены практические решения по управлению инвалидными креслами

(Birbaumer, Pfurtscheller, Walpaw, Müller, Schalk, Neuper, Kübler, Millan и другими исследователями) и восстановлению подвижности конечностей после травм и инсультов [12].

### Нейронное декодирование и нейротюнинг

Как же моторные ИМК определяют параметры (свойства) движения по возбуждению нейронов? Множество нейрофизиологических исследований показали, что потенциал действия изолированных нейронов соответствует конкретным поведенческим проявлениям. К примеру, возбуждение нейронов моторной коры определяет позицию, ускорение и угол вращения руки. Разработчики используют такие соотнесения для декодирования нейронных сигналов. При этом повторяемость и узнаваемость нейронных паттернов, так называемый нейротюнинг (настройка) — ключевой фактор декодирования. Нейроны могут быть «плохо настроены», «зашумлены», что осложняет процесс их «расшифровки».

Декодирование нейронами различных параметров движений начали исследовать в 1950–60-е гг.: при помощи игольчатых электродов записывали внеклеточную активность одиночных нейронов в разных областях мозга. Это были исследования соматосенсорной [34], моторной [16] и зрительной [35] систем. Стало понятно, что даже одиночные нейроны демонстрируют устойчивые паттерны активности, кодирующие ряд сенсорных и моторных проявлений.

Методология записи одиночной нейронной активности впоследствии была использована во многих исследованиях. Wise и соавт. открыли, что нейроны коры активируются за несколько секунд до совершения движения. В их экспериментах обезьяны знали, какое движение они должны совершить, но были обучены не делать этого до срабатывания триггера [36]. Kalaska и соавт. использовали запись одиночной нейронной активности и задание на отложенное движение, чтобы изучить влияние визуальных стимулов на направление движения [37]. Эти эксперименты показали, что разряды нейронов содержат информацию как о реальных движениях, так и о тех, что планируются мозгом, но не осуществляются.

Georgopoulos с коллегами исследовали паттерны одиночных двигательных корковых нейронов при движении руки в разных направлениях [38]. Оказалось, что зависимость между силой сигнала и направлением движения есть и описывается функцией косинуса, т. е. частота разряда нейронов была максимальной для какого-либо направления, а затем снижалась по мере отступления от него. Чтобы объяснить, каким образом разряды нейронов трансформируются в движении руки в определенном направлении, Georgopoulos предложил концепцию популяционного вектора. Такой вектор представляет собой векторную сумму сигналов множества нейронов (нейронной популяции), которая меняется при совершении движения и отображает его направление. Интересно, что даже мысленное представление перемещения без совершения такового рукой, к примеру воображение вращения в пространстве на 90°, хорошо описывалось популяционным вектором [39].

Таким образом, стало ясно, что возбуждения отдельных нейронов несут информацию о поведенческих проявлениях и их параметрах и могут быть декодированы. Нейрофизиологи часто используют громкоговоритель для отслеживания разрядов отдельных нейронов. Опытный нейрофизиолог может сказать, чем занимается его

подопытная обезьяна, просто слушая звучание разрядов. Декодер ИМК точно так же «слушает» нейроны и пытается предположить, какое движение или намерение означает это «звучание». Интерпретация тем точнее, чем больше возбужденных нейронов «слышит» декодер.

### О чём поют нейронные ансамбли?

Чем больше «музыкантов» в нейронном ансамбле, тем выше точность декодирования: увеличение объема информации позволяет отсеять случайные шумовые флуктуации одиночных нейронов [1, 2]. Это не означает, что небольшие нейронные популяции бесполезны для ИМК. Иногда для работы интерфейса достаточно нескольких нейронов [33, 40]. Такие нейроны отличаются высокой степенью специализации. Иногда их называют «нейронами бабушки» или «нейронами Дженнифер Энистон», так как они реагируют исключительно на свойственный им стимул — фотографию бабушки или Дженнифер Энистон [41]. Если задача ИМК — распознавание присутствия бабушки или Дженнифер Энистон, такие нейроны удобны. Однако они встречаются относительно нечасто, и в действительности мозг воспринимает и обрабатывает информацию иначе. С единичных нейронов можно уловить «мелодику», общую идею поведенческого проявления, но его «симфония» играется множеством инструментов. Чем больше нейронов вовлечено в процесс, тем точнее кодировка [2]. По этой причине матричная регистрация активности большого числа нейронов наиболее эффективна при создании ИМК. В частности, очень важно регистрировать сигналы больших нейронных ансамблей, если необходимо декодировать сложные поведенческие проявления [30]. Такая ансамблевая запись не только улучшает декодирование, но и обеспечивает его стабильность [1].

### Алгоритмы декодирования

ИМК-декодеры используют методы статистики и машинного обучения для декодирования поведенческих проявлений нейронной активности. Исходные настройки декодера устанавливаются при помощи обучающей выборки. В опытах на обезьянах для настройки необходима запись нейрональной активности длительностью 5–10 мин. В течение этого времени животное выполняет задачу вручную, например двигает джойстик лапой [17, 28, 29], а декодер «научается» распознавать параметры движения (положение, ускорение, силу). Затем режим работы переключается на управление мозгом, и обезьяна достигает цели (наводит курсор на мишень) уже через декодер, а не при помощи лап.

Обучающая выборка может быть получена и без необходимости двигать рукой. Вместо этого субъект наблюдает за движением курсора, или — в случае с человеком — мы просим его вообразить движение. Такой подход особенно важен, если участник исследования парализован.

Выбор алгоритма декодирования определяется набором параметров, свойственных изучаемому поведенческому проявлению, характеристиками нервного сигнала (запись одиночных нейронов, потенциалы поля и др.), числом каналов записи, а также особенностями поставленной перед испытуемым задачи (например, непрерывное управление положением курсора или, наоборот, движение на основе случайного выбора).

При декодировании с использованием популяционных векторов обучающей выборкой обычно является набор

простых движений, например от центра по радиусу в разных направлениях. Затем выполняется расчет популяционного вектора, представляющего собой сумму векторов отдельных нейронов, длина которых соответствует частоте разряда [39]. Несмотря на некоторые преимущества, одним из которых является наглядность, метод популяционных векторов далеко не оптимален, так как не включает статистические операции, улучшающие точность декодирования.

Похожим образом работает фильтр Винера (Wiener filter), но он гораздо точнее, поскольку минимизирует среднеквадратическую ошибку. Выходные данные фильтра Винера за время  $t$  представляют собой взвешенную сумму частот разрядов нейронов, измеренных в нескольких точках в прошлом (5–10 точек с интервалом в 1 с) [42]. Весовые коэффициенты рассчитываются для каждого нейрона и каждой точки с использованием матричной алгебры.

Во многих случаях, например при наличии стереотипных паттернов движений, лучше работает другой фильтр — фильтр Калмана (Kalman filter). Фильтр Калмана распределяет переменные в наборы переменных состояния (например, положение и скорость движения конечности) и переменных настройки (например, связь разряда нейрона с направлением движения). В процессе декодирования вектор состояния обновляется с дискретными временными интервалами (обычно 50–100 мс). При обновлении производятся два вычисления: предсказание следующего состояния и его уточнение на основе данных нейронной активности. Уточнение использует эмпирическую модель, описывающую связи между паттернами нейронов и состоянием системы.

Сигма-точный фильтр Калмана (unscented Kalman Filter) повышает качество оценки, произведенной с помощью классического фильтра Калмана, поскольку при использовании эмпирической модели учитывает нелинейные зависимости между срабатыванием нейронов и движениями.

Интересной прикладной особенностью нейронального декодирования является его работа «в обе стороны» — возможность разрабатывать новые аналитические математические методы на основе данных о физиологии взаимодействия между нейронами. Например, так называемые искусственные нейронные сети (artificial neural networks) во многом копируют организацию нервной системы и используются для интерпретации деятельности «обычных» нейронных сетей. В ряде лабораторий для декодирования применяют рекуррентные нейронные сети (recurrent neural networks) [43].

При решении задач, предполагающих ряд дискретных ответов, используют дискретные классификаторы. Примером является ЭЭГ-декодирование букв и цифр по корковым потенциалам [44, 45]. В ИМК-декодировании также нашли применение другие методы машинного обучения: гауссовский классификатор, структуры из вероятностных классификаторов (байесовские сети), скрытые марковские модели, алгоритм ближайшего соседа ( $k$ -nearest neighbour algorithm), искусственные нейронные сети, многослойный перцептрон, элементы нечеткой логики.

### Теории контроля движений и моторные ИМК

Несколько теорий управления движениями были разработаны для объяснения нейрональных механизмов движений, но они значимы и для совершенствования ИМК.

Классическая схема управления движениями включает набор иерархически организованных областей нервной

системы. Согласно этой схеме, корковые структуры находятся на вершине иерархической лестницы. Они управляют самыми сложными движениями, такими как движения пальцев рук. Ствол мозга и спинной мозг контролируют более простые функции: позные автоматизмы и спинномозговые рефлексы [46]. Спинной мозг четвероногих животных обеспечивает ритмические движения ног при ходьбе посредством центрального генератора упорядоченной активности (central pattern generator) [47].

Исторически регуляция движений долгое время описывалась как набор рефлексов. Концепция рефлекторной дуги была предложена Sherrington [46]. В настоящее время рефлексы признаются, но также подчеркивается роль головного мозга в управлении произвольными (сознательными) движениями. Типичная двигательная активность содержит как произвольные, так и рефлекторные составляющие [48]. Многие ИМК имитируют эти составляющие, предоставляя контроль над высокоуровневыми параметрами (начало и окончание движения и выбор цели) испытуемому и делегируя управление низкоуровневыми задачами (например, поддержанием равновесия) контроллеру робота.

Многие современные теории контроля движений построены на идее о том, что мозг формирует внутреннюю модель тела для организации его двигательной активности. Впервые она была озвучена в концепции Head и Holmes (они предложили термин «схема тела», body scheme), объяснившей, как мозг отслеживает и обновляет информацию о конфигурации частей тела на основе сигналов от сенсорных рецепторов [49]. Разработчики современных ИМК стремятся создать нейроконтролируемые конечности, которые мозг в конечном итоге включит в схему тела [1]. (Не следует смешивать понятия «схема тела» и «образ тела». Схема тела — это модель, конструируемая мозгом, отражающая структурно-динамическую организацию тела, а образ — осознанное эстетическое и сексуальное восприятие собственного тела.)

От концепции схемы тела исследователи перешли к теории внутренней модели (internal model theory) [50]. Она предлагает вычленять две составляющие: объект управления (например, рука с мышцами и суставами) и контроллер (нейронная сеть, контролирующая движения руки). Контроллер программирует предстоящие положения объекта и предстоящую сенсорную обратную связь, соотносит результат с данными фактической сенсорной обратной связи и при необходимости корректирует активность. Один из возможных способов реализации такой модели описывается гипотезой равновесной точки [51]. Согласно этой гипотезе, высшие моторные центры устанавливают для объекта управления равновесную точку, а серво-механизмы спинного мозга переносят в нее объект.

### «Ручные» ИМК

Движения рук — моторная основа нашей повседневной жизни. Поэтому многие разработчики ИМК сосредоточены на задаче управления руками. К тому же движения рук имеют более значительную кортикальную компоненту, что удобно для разработчиков — ведь регистрировать сигналы коры головного мозга технически проще, чем сигналы нижележащих структур.

На рис. 1 представлен пример интерфейса, воспроизводящего движения руки. В данном случае это был инвазивный ИМК, с помощью которого обезьяны захватывали появляющиеся в различных местах объекты при помощи роботизированной руки. Для нейродекодирования использовался фильтр Винера.

В другом эксперименте с обезьянами для управления движениями в трёхмерном пространстве использовались стереоскопические очки [33]. Движение руки преобразовывалось в перемещение курсора в трёхмерном пространстве. Декодирование первоначально осуществлялось вышеупомянутым методом популяционных векторов. Затем точность системы была значительно повышена за

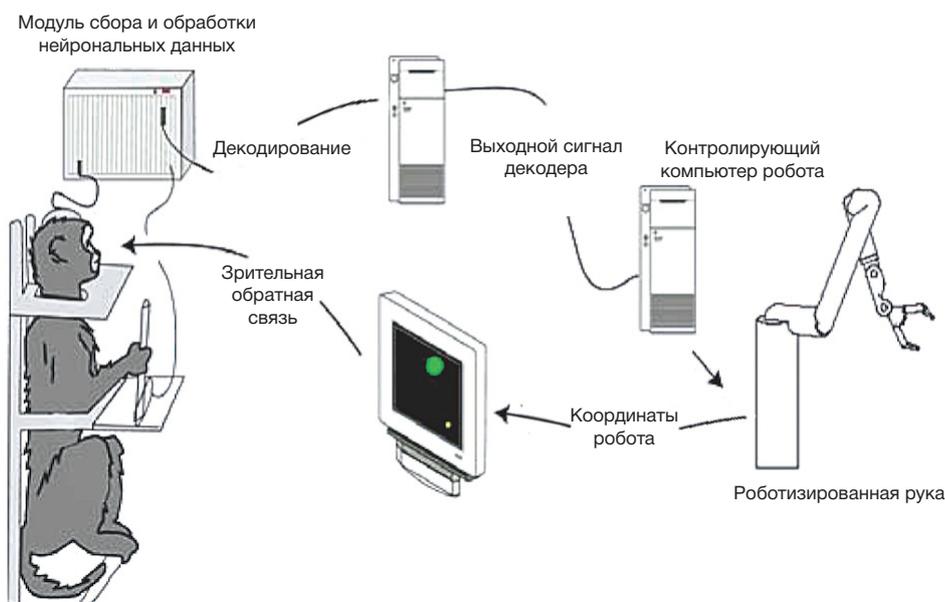


Рис. 1. Схема работы ИМК роботизированной руки, способной схватывать объекты (Carmena et al., [28])

Внеклеточная активность нейронов коры считывалась мультиэлектродной матрицей, имплантированной в несколько кортикальных зон обезьяны. Сигналы декодировались с помощью фильтра Винера и передавались на контролирующее устройство роботизированной руки. На экране обезьяне демонстрировал курсор, который менял свой размер в зависимости от силы сжатия. Задача состояла в том, чтобы после появления виртуального объекта на экране дотянуться до него и сжать. В одном варианте задания обезьяна управляла роботом при помощи джойстика с двумя степенями свободы, и сила захвата определялась сжатием ручки джойстика. В другом — джойстик не был подключён к роботу, и робот управлялся напрямую командами моторной коры.

счет применения адаптивного алгоритма, который минимизировал ошибки траекторий. Эта же группа исследователей некоторое время спустя продемонстрировала работу ИМК, при помощи которого обезьяны могли кормить себя, используя роботизированную руку [52]. Подобные технологии с применением роботизированной руки уже применяются для облегчения жизни полностью парализованных пациентов [7, 9].

Также разработаны виртуальные технологии, а именно: пара виртуальных рук, движущихся на экране компьютера, и управляющий ими ИМК [31]. В этих экспериментах несколько сотен электродов регистрируют активность нейронов в обеих полушариях коры, что и позволяет управлять сразу двумя руками.

### Функциональная электростимуляция

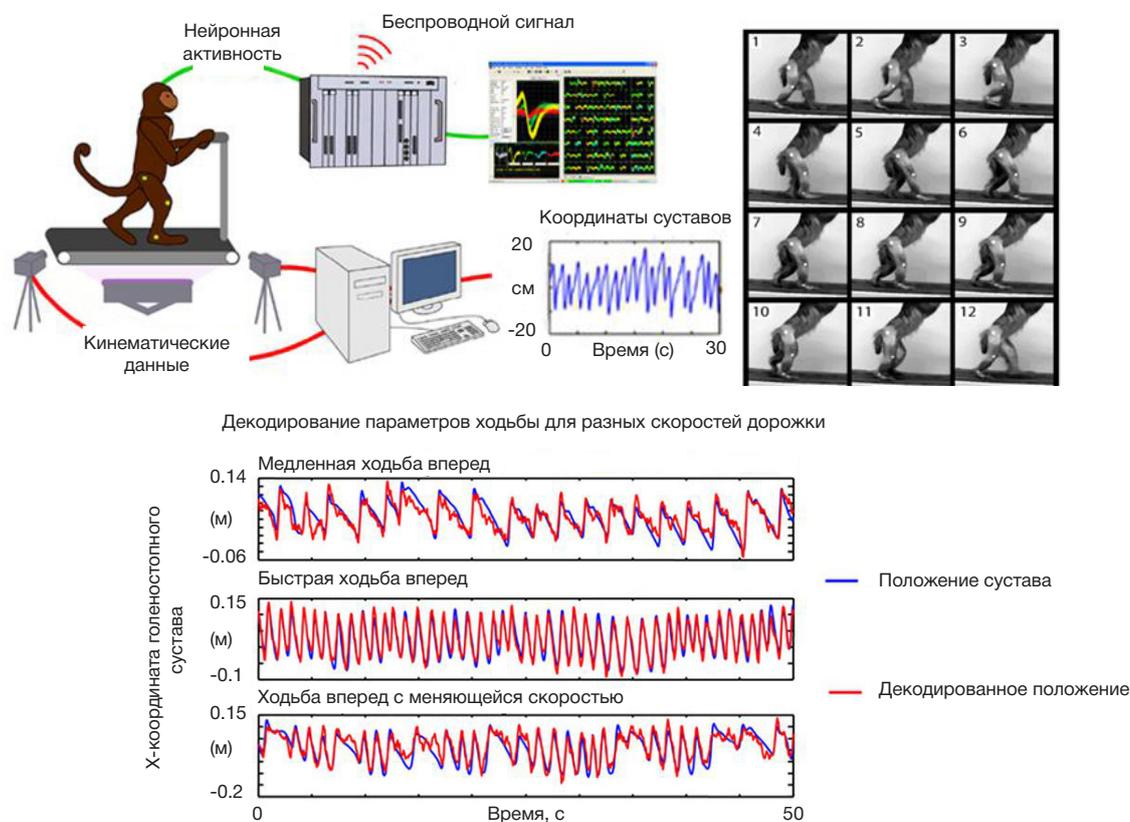
Робототехнические ИМК необходимы в случае утраты конечностей, но если конечности не утрачены, а только обездвижены, возможно применение функциональной электростимуляции (ФЭС). Эта технология состоит в применении электродных матриц для электрической стимуляции мышц набором импульсов, имитирующих сигналы нервной системы. Мышцы активируются под воздействием стимуляции, и конечности приводятся в движение. Для поверхностной стимуляции мультиэлектродная матрица накладывается на кожу пациента. Такую контактную матрицу можно вшивать в одежду, превращая ее в носимую электронику (перчатки, штаны и т. д.) [53]. Контроль ИМК может осуществляться бета-ритмами ЭЭГ. Например, так воспроизводили движения парализованной кисти [54].

Используя инвазивный нейроинтерфейс, с помощью ФЭС приводили в движение парализованную руку обезьяны, при этом движения были достаточно точными [40]. При подключении к большому числу мышц и декодировании более сотни нейронов обезьяны с парализованными руками могли самостоятельно осуществлять хватательные движения [55, 56]. Недавно такое управление при помощи инвазивного ИМК было осуществлено парализованным человеком [6].

Согласно экспериментальным данным, часть низкоуровневых функций (например, подстройку позиции конечности в поле внешних сил) можно возложить на локальное самоуправление. В этом случае используют анаплерозные системы обратной связи, например датчики положения [57]. ИМК на основе ФЭС может учитывать особенности контрактильных свойств мышц и даже такой феномен, как локальная мышечная память. Инструментом обратной связи служит зрение [53] или сенсорное замещение, например с использованием вибростимуляции.

### ИМК прямохождения

Впервые возможность реконструкции кинематики прямохождения на основе регистрации активности коры головного мозга была подтверждена сотрудниками лаборатории Nicolelis [30]. Схема эксперимента представлена на рис. 2. Обезьян обучили ходить по беговой дорожке. Во время выполнения задачи регистрировали нейронную активность областей сенсомоторной коры, отвечающих за нижние конечности, и записывали на видео движения ног обезьяны. Декодер ИМК был настроен так, чтобы обработанный



**Рис. 2.** Реконструкция кинематики прямохождения на основе ансамблевой активности коры головного мозга (Fitzsimmons et al., [30])  
Активность нейронных ансамблей сенсомоторной коры обезьян регистрировалась во время хождения по беговой дорожке. Синие кривые — движение, отслеженное системой видеорегистрации, красные — воссозданное движение.

сигнал соответствовал наблюдаемому движению. Удалось добиться хороших результатов декодирования для хождения как вперед, так и назад.

Вдохновленные этими результатами, Niclolleis и его коллеги основали проект Walk Again Project — международный консорциум, целью которого является разработка экзоскелета, приводимого в движение корой головного мозга [2]. Niclolleis продемонстрировал экзоскелет, управляемый на основе ЭЭГ, на открытии чемпионата мира по футболу в 2014 г. Похожий проект, Mindwalker, появился и в Европе [58]. Кроме того, Contreras Vidal и его коллеги выдвинули идею разработки экзоскелета для ног, также управляемого на основе медленных ритмов ЭЭГ, и в 2012 г. выполнили декодирование кинематики походки человека, идущего по беговой дорожке [59]. Чрезвычайно практичный экзоскелет для ног «Экзоатлет» был разработан в России [60].

В качестве альтернативы ЭЭГ изучается возможность реактивации центрального генератора управляемой активности. Она была продемонстрирована в опытах на крысах с рассеченным спинным мозгом, у которых подвижность была восстановлена с помощью эпидуральной электростимуляции и действия серотонинергических агонистов [61].

### Нейропластичность, связанная с использованием ИМК

Во многих исследованиях было убедительно показано, что обучение работе с ИМК повышает пластичность головного мозга испытуемого. Было выдвинуто предположение, что за счет этого искусственные конечности со временем могут встраиваться в модель тела и восприниматься мозгом как собственные [1, 62].

Управление внешними устройствами с помощью ИМК имеет много общего с использованием инструментов. Так, в известном эксперименте по изучению нейропластичности у обезьян, обученных пользоваться граблями для подтягивания удаленных предметов [63], было обнаружено, что нейроны задней теменной коры, реагирующие на предметы в зоне непосредственного доступа руки, стали реагировать на предметы, расположенные в пределах досягаемости граблей. Иными словами, мозг «встроил» грабли в схему тела.

Долговременное использование ИМК может приводить к аналогичным изменениям в мозге. Так, нейроны, участвующие в управлении ИМК, меняют паттерны активности [64]. Также изменяются связи нейронов друг с другом [28, 31], и меняется их чувствительность к направлению движения [29].

### Неинвазивные ИМК

Важное требование к ИМК — безопасность. Наиболее безопасны неинвазивные ИМК, т. е. не использующие проникновение в биологические ткани для записи нейронной активности. Было разработано множество неинвазивных ИМК, в первую очередь для управления инвалидными колясками и восстановления коммуникативной функции с помощью речевых синтезаторов [44, 45, 65–68].

Запись ЭЭГ — наиболее распространенный метод, применяющийся при разработке неинвазивных ИМК. По способу активации мозга метод может быть независимым (эндогенная активация — воображение движения) и зависимым (экзогенная активация — демонстрация движения на экране). В первом случае для управления исполь-

зуются медленные корковые потенциалы, мю- (8–12 Гц), бета- (18–30 Гц) и гамма-ритмы (30–70 Гц) [4]. Эффективность метода может быть повышена применением адаптивных алгоритмов декодирования [69]. Во втором случае фокусировка внимания на внешнем зрительном стимуле приводит к хорошо выраженной реакции зрительной коры в сравнении с реакцией на стимул, оставленный без внимания, и намерения пациента расшифровываются на основе предварительно записанной разности реакций на замеченные и проигнорированные стимулы. Так, при тренировке ИМК, основанного на стационарных индуцированных зрительных потенциалах, регистрируется реакция на периодически появляющиеся стимулы [70]. На экране демонстрируют несколько объектов, каждый из которых появляется и исчезает с собственной частотой. Испытуемый сосредотачивается по очереди на каждом из них. Аналогично можно использовать Р300-потенциалы [71].

Существенной проблемой ЭЭГ-ИМК являются артефакты записи ЭЭГ, которые по ошибке могут быть приняты за нейронную активность и даже послужить управляющими сигналами. Зависимые ИМК менее чувствительны к артефактам. Лучшее качество сигнала по сравнению с ЭЭГ, лучшее временное и пространственное разрешение и меньшую чувствительность к артефактам демонстрируют электрокортикографические ИМК, однако они являются инвазивными.

Помимо ЭЭГ используют магнитоэнцефалографию (МЭГ) [72]. Для регистрации слабых магнитных полей, генерируемых мозгом, требуется очень высокая чувствительность метода, которую обеспечивают сверхпроводящие квантовые магнитометры. Вследствие этого регистрация МЭГ требует специальной аппаратуры и условий (в первую очередь, магнитного экранирования), однако МЭГ обеспечивает лучшее временное и пространственное разрешение, чем ЭЭГ.

Другим методом регистрации активности мозга является отслеживание концентрации оксигемоглобина и дeoксигемоглобина в мозговом кровотоке посредством ближней инфракрасной спектроскопии (БИКС) с временным разрешением 100 мс и пространственным разрешением 1 см. Главный недостаток технологии — значительная задержка сигнала, до нескольких секунд. Тем не менее, основанные на ней ИМК набирают популярность [73].

Мощным инструментом отслеживания изменений кровоснабжения в мозге является функциональная магнитно-резонансная томография. Ее временное разрешение ограничено 1–2 с, задержка сигнала составляет несколько секунд, но от всех неинвазивных техник метод отличается непревзойденным пространственным разрешением, позволяющим отслеживать активность любого отдела мозга [73].

### Сенсорные ИМК

Сенсорные ИМК могут быть использованы для восстановления слуха, зрения, вкуса, обоняния, тактильной и проприоцептивной чувствительности, чувства равновесия. Нарушения функций органов чувств могут возникать как из-за повреждений периферических отделов нервной системы, вызывающих полную потерю чувств (слепота, глухота), так и из-за повреждений органов обработки сенсорной информации высшего уровня (таламус, мозжечок, подкорковые узлы, кора головного мозга), которые, тем не менее, не приводят к полной потере чувствительности.

Интересным примером является «слепозрение» у пациентов с повреждением зрительной коры, которые слепы, но могут воспринимать и обрабатывать зрительные стимулы подсознательно [74].

В настоящее время сенсорные ИМК еще не способны заменять высокоуровневые компоненты сенсорной системы. (Как, например, исправить «слепозрение»?) Современные разработки направлены на исправление низкоуровневых повреждений, связанных с дисфункцией периферических отделов и рецепторов. Такие системы заменяют физиологические сенсоры на искусственные, которые подключаются к неповрежденным сенсорным цепям [17, 75, 76]. Передача сигналов от искусственных сенсоров в нервную ткань обычно осуществляется посредством электростимуляции, но в последнее время стали набирать популярность и оптогенетические методы [77].

Следует также упомянуть сенсорное замещение — метод, при котором поток информации от искусственного сенсора перенаправляется к неповрежденным сенсорам другой части тела или другого органа чувств. При таком сенсорном замещении может производиться переключение с одной сенсорной модальности на другую. Например, искусственное зрение для слепых можно осуществить, подключив сигнал с видеокамеры к тактильной матрице, стимулирующей спину [78].

### Слуховые протезы

Кохлеарные имплантаты являются наиболее успешной разработкой из числа сенсорных ИМК [13, 14]. Пациенты с такими имплантатами могут распознавать речь, отличать женские голоса от мужских и даже воспринимать мелодии. Двусторонняя имплантация восстанавливает объемный слух. Имплантат состоит из шести компонентов: (1) внешнего микрофона, (2) звукового процессора, преобразующего сигнал с микрофона в стимулирующую последовательность, (3) передатчика последовательности через кожу, (4) приемника и стимулятора, закрепленного на кости под кожей, (5) кабеля, соединяющего стимулятор и электроды, и (6) массива стимулирующих электродов, имплантированных в ушную улитку.

Сформированная последовательность импульсов передается на неповрежденные участки слухового нерва. Использование нескольких электродов позволяет стимулировать различные участки нерва; число электродов обычно варьируется от 4 до 22. Было предложено несколько различных методов формирования сигнала многоканальной стимуляции. В методе непрерывного перемежающегося отбора сигнал с микрофона преобразовывается в частотный спектр, и интенсивность сигнала в каждой полосе преобразуется в интенсивность стимула. Сжатие широкого динамического диапазона громкости в узкий диапазон стимулов достигается нелинейной функцией трансформации. Также применяются схемы, основанные на непрерывном анализе сигнала с микрофона с циклическим выбором электрода для передачи сигнала.

Для пациентов с тяжелыми повреждениями ушной улитки были разработаны стволовые имплантаты [13]. Эти устройства стимулируют слуховое ядро ствола мозга с помощью поверхностных или проникающих электродов. Некоторые пациенты с такими имплантатами отмечали низкое качество распознавания звука, но у других оно было сравнимо с качеством звука кохлеарных имплантатов.

### Протезирование зрения

В настоящее время зрительные протезы способны восстановить простые зрительные ощущения [79]. Зрительные протезы можно разделить на две группы: протезы сетчатки и мозговые протезы. Протезы сетчатки применяются при патологиях, не затрагивающих зрительный нерв, а мозговые — при повреждениях зрительного нерва, когда для вызова зрительных ощущений необходимо стимулировать зрительные структуры мозга, например зрительную кору.

В зависимости от тяжести повреждения сетчатки используют несколько типов протезов сетчатки. Эпиретинальные импланты стимулируют слой нервных волокон ганглиозных клеток сетчатки с помощью внутриглазных массивов электродов (до 60 каналов), на которые подаются кадры с видеокамеры. Ожидается, что в будущем все компоненты таких протезов можно будет имплантировать внутрь глаза. Пациенты с такими имплантами способны воспринимать форму объектов, яркость цвета и направление движения.

Субретинальные протезы стимулируют электрическими сигналами ганглиозные и биполярные клетки. Они состоят из нескольких тысяч микрофотодиодов, которые реагируют на уровень освещения и отображают зрительный стимул на массив микроэлектродов. Эта разработка находится на ранней стадии исследований.

При транскориоидальном протезировании несколько десятков стимулирующих электродов имплантируют под сосудистую оболочку глаза. Этот метод в сравнении с

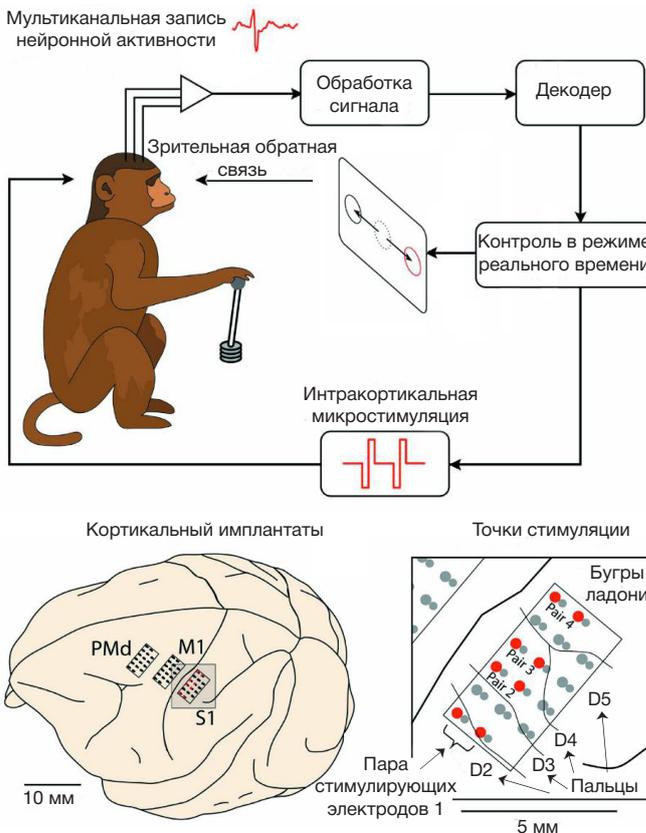


Рис. 3. Схема первого интерфейса мозг-компьютер-мозг (O’Doherty et al. [80])

Моторная часть петли управления приводит в движение курсор. Желаемое положение курсора декодируется по активности нейронов моторной коры. Сенсорная часть петли служит обратной связью. Она передает искусственные тактильные сигналы в соматосенсорную кору посредством интракорткальной микроstimуляции.

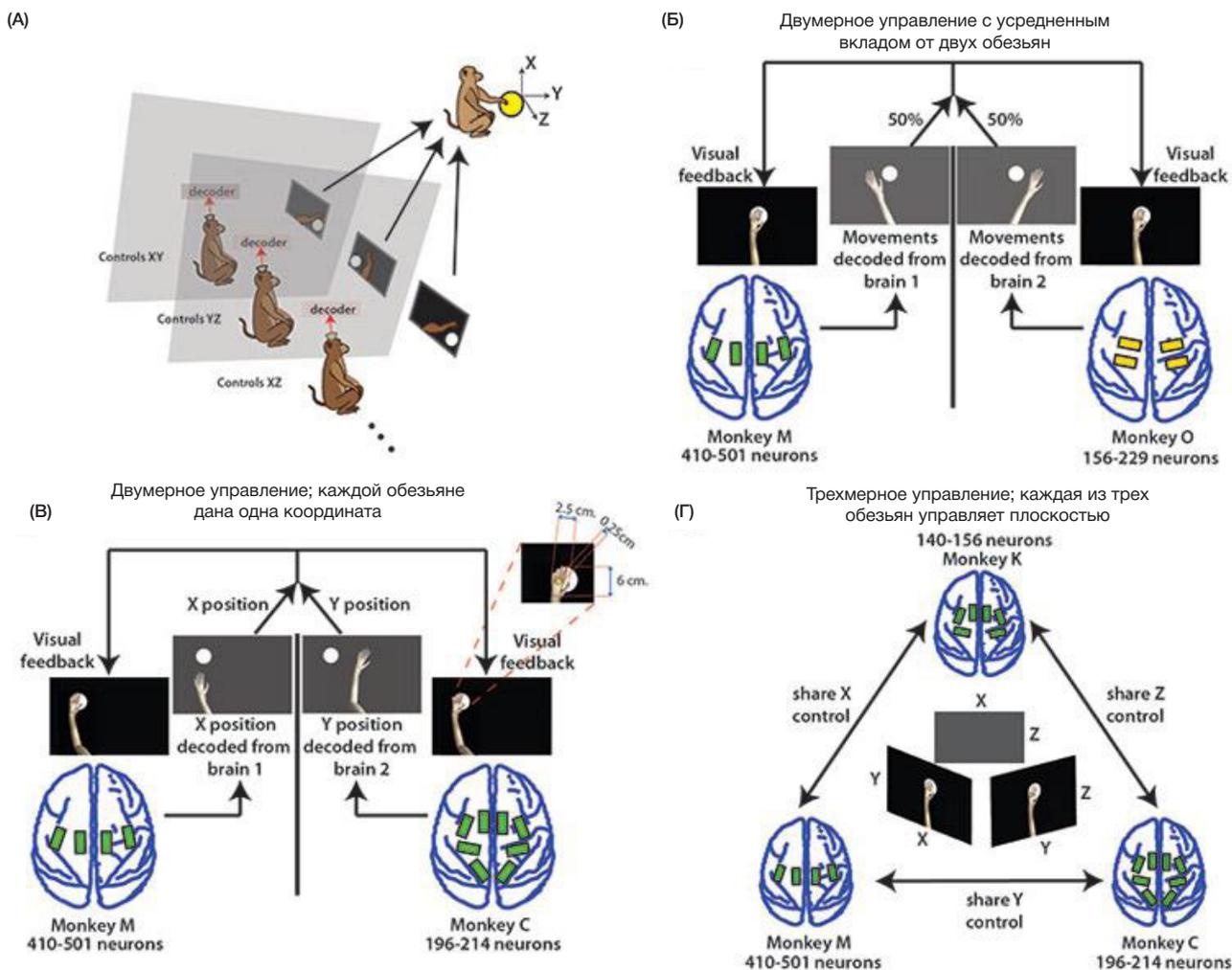


Рис. 4. Объединение мозговой активности нескольких испытуемых с помощью интерфейса мозг-компьютер (Ramakrishnan et al., [81])

Каждая из обезьян находилась в отдельной комнате и видела на мониторе виртуальную руку, которой необходимо было захватить объект (А). Сигналы считывались при помощи 700-канальной инвазивной электродной матрицы с нескольких отделов коры животных. После декодирования сигналы посылались на виртуальную руку либо с равным приоритетом (Б), либо согласно схеме, в которой каждая обезьяна могла контролировать только одну координату (В) или одну плоскость (Г). Эти задачи решались значительно эффективнее, чем если бы рукой управляло одно животное.

другими требует сравнительно несложного хирургического вмешательства. Пациенты воспринимают стимулы как фосфены и способны различать простые объекты.

В неретинальных протезах, как правило, используют электростимуляцию зрительной коры. Уже в 1974 г. было произведено успешное восстановление простого зрительного восприятия путем имплантации 64 электродов на поверхность зрительной коры [25]. Возможно, применение внутрикоровых микроэлектродных массивов даст значительно лучшие результаты.

**Двухнаправленные ИМК (интерфейс мозг-компьютер-мозг)**

Двухнаправленные, или сенсорно-связанные, ИМК одновременно расшифровывают активность мозга и передают в него искусственные сенсорные сигналы, создавая петлю обратной связи. На рис. 3 изображена схема первого интерфейса мозг-компьютер-мозг (ИМКМ), разработанного в лаборатории Nicolelis [80]. Массивы микроэлектродов были вживлены в моторную и соматосенсорную кору обезьян. С помощью первого массива считывали наме-

рения, а второй массив посредством интракортальной микроэлектростимуляции передавал искусственные тактильные ощущения обратно в мозг. ИМКМ позволил подопытным обезьянам изучать виртуальный объект с помощью курсора или реалистичного изображения (аватара) руки обезьяны. Виртуальные объекты выглядели одинаково, но имели различную текстуру, информация о которой передавалась в мозг посредством микростимуляции.

**Мозгосеть**

В последнее время все чаще проводят исследования сетей, соединяющих отдельные нервные системы. В общем виде исследовательская задача формулируется как создание сетей, объединяющих знания и усилия нескольких индивидумов с целью более эффективного решения задач. Такими распределёнными сетями являются neuro-net (сообщество людей и технологий, использующих нейрональные сигналы для коммуникаций), body-net (сеть, в которой движения одного индивида могут передаваться другому при помощи ФЭС) и brain-net (соединение нескольких мозгов при помощи ИМК-технологий [81], рис. 4).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы являемся свидетелями бурного развития технологий ИМК. Исследователи непрерывно сообщают о новых результатах, продвигаясь все дальше в разработке методов и устройств, помогающих восстанавливать утраченную функциональность человеческого тела. При продолжительном использовании ИМК искусственная конечность может встраиваться в модель тела, формируемую мозгом. Многие ИМК-проекты находятся на стадии лабораторных

исследований, но уже есть примеры успешно внедренных в клиническую практику изобретений, и не за горами будущее, в котором при помощи нейроимплантов и функциональной электростимуляции слепоглухонемой парализованный человек сможет вести образ жизни здорового человека. С помощью ИМК, обеспечивающих кооперацию нервных систем, человечество может выйти на новый уровень развития. Первыми ласточками в этом развитии являются недавно появившиеся проекты по созданию «интернета тел и сознаний».

## Литература

1. Lebedev MA, Nicolelis MA. Brain-machine interfaces: past, present and future. *Trends Neurosci.* 2006 Sep; 29 (9): 536–46. Epub 2006 Jul 21.
2. Nicolelis MA, Lebedev MA. Principles of neural ensemble physiology underlying the operation of brain-machine interfaces. *Nat Rev Neurosci.* 2009 Jul; 10 (7): 530–40.
3. Schwartz AB, Cui XT, Weber DJ, Moran DW. Brain-controlled interfaces: movement restoration with neural prosthetics. *Neuron.* 2006 Oct 5; 52 (1): 205–20.
4. McFarland DJ, Krusienski DJ, Wolpaw JR. Brain-computer interface signal processing at the Wadsworth Center: mu and sensorimotor beta rhythms. *Prog Brain Res.* 2006; 159: 411–9.
5. Hatsopoulos NG, Donoghue JP. The science of neural interface systems. *Annu Rev Neurosci.* 2009; 32: 249–66.
6. Bouton CE, Shaikhouni A, Annetta NV, Bockbrader MA, Friedenber DA, Nielson DM, et al. Restoring cortical control of functional movement in a human with quadriplegia. *Nature.* 2016 Apr 13. doi: 10.1038/nature17435.
7. Collinger JL, Wodlinger B, Downey JE, Wang W, Tyler-Kabara EC, Weber DJ, et al. High-performance neuroprosthetic control by an individual with tetraplegia. *Lancet.* 2013 Feb 16; 381 (9886): 557–64.
8. Hochberg LR, Serruya MD, Friehs GM, Mukand JA, Saleh M, Caplan AH, et al. Neuronal ensemble control of prosthetic devices by a human with tetraplegia. *Nature.* 2006 Jul 13; 442 (7099): 164–71.
9. Hochberg LR, Bacher D, Jarosiewicz B, Masse NY, Simeral JD, Vogel J, et al. Reach and grasp by people with tetraplegia using a neurally controlled robotic arm. *Nature.* 2012 May 16; 485 (7398): 372–5.
10. Tangermann M, Krauledat M, Grzeska K, Sagebaum M, Blankertz B, Vidaurre C, Müller KR. Playing pinball with non-invasive BCI. In: Koller D, Schuurmans D, Bengio Y, editors. *Advances in Neural Information Processing Systems 21. Neural Information Processing Systems*; 2008 Dec 8–11; Vancouver and Whistler, BC, Canada. Cambridge, MA: MIT Press; 2009. p. 1641–8.
11. Lin CT, Chang CJ, Lin BS, Hung SH, Chao CF, Wang IJ. A real-time wireless brain-computer interface system for drowsiness detection. *IEEE Trans Biomed Circuits Syst.* 2010 Aug; 4 (4): 214–22.
12. Виртуальная реальность и коттики на хакатоне Microsoft и Сколково [Интернет]. Хабрахабр. Январь 2015. Доступно по ссылке: <https://habrahabr.ru/company/microsoft/blog/275837/>.
13. Shannon RV. Advances in auditory prostheses. *Curr Opin Neurol.* 2012 Feb; 25 (1): 61–6.
14. Wilson BS, Dorman MF. Cochlear implants: a remarkable past and a brilliant future. *Hear Res.* 2008 Aug; 242 (1–2): 3–21.
15. Lilly JC. Distribution of 'motor' functions in the cerebral cortex in the conscious, intact monkey. *Science.* 1956; 124: 937.
16. Evars EV. Motor cortex reflexes associated with learned movement. *Science.* 1973; 179: 501–3.
17. O'Doherty JE, Lebedev MA, Ifft PJ, Zhuang KZ, Shokur S, Bleuler H, Nicolelis MA. Active tactile exploration using a brain-machine-brain interface. *Nature.* 2011 Oct 5; 479 (7372): 228–31.
18. Lilly JC. Instantaneous relations between the activities of closely spaced zones on the cerebral cortex; electrical figures during responses and spontaneous activity. *Am J Physiol.* 1954; 176: 493–504.
19. Dennett DC. *Consciousness explained.* London, UK: Penguin UK; 1993. 528 p.
20. Frank K. Some approaches to the technical problem of chronic excitation of peripheral nerve. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1968 Aug; 77 (4): 761–71.
21. Humphrey DR, Schmidt EM, Thompson WD. Predicting measures of motor performance from multiple cortical spike trains. *Science.* 1970 Nov 13; 170 (3959): 758–62.
22. Schmidt EM. Single neuron recording from motor cortex as a possible source of signals for control of external devices. *Ann Biomed Eng.* 1980; 8 (4–6): 339–49.
23. Fetzi EE. Operant conditioning of cortical unit activity. *Science.* 1969 Feb 28; 163 (3870): 955–8.
24. Brindley GS, Lewin WS. The sensations produced by electrical stimulation of the visual cortex. *J. Physiol.* 1968 May; 196 (2): 479–93.
25. Dobbelle WH, Mladejovsky MG, Girvin JP. Artificial vision for the blind: electrical stimulation of visual cortex offers hope for a functional prosthesis. *Science.* 1974 Feb 1; 183 (4123): 440–4.
26. Chapin JK, Moxon KA, Markowitz RS, Nicolelis MA. Real-time control of a robot arm using simultaneously recorded neurons in the motor cortex. *Nat Neurosci.* 1999 Jul; 2 (7): 664–70.
27. Wessberg J, Stambaugh CR, Kralik JD, Beck PD, Laubach M, Chapin JK, et al. Real-time prediction of hand trajectory by ensembles of cortical neurons in primates. *Nature.* 2000 Nov 16; 408 (6810): 361–5.
28. Carmena JM, Lebedev MA, Crist RE, O'Doherty JE, Santucci DM, Dimitrov DF, et al. Learning to control a brain-machine interface for reaching and grasping by primates. *PLoS Biol.* 2003; 1 (2): e42. doi:10.1371/journal.pbio.0000042.
29. Lebedev MA, Carmena JM, O'Doherty JE, Zacksenhouse M, Henriquez CS, Principe JC, Nicolelis MA. Cortical ensemble adaptation to represent velocity of an artificial actuator controlled by a brain-machine interface. *J Neurosci.* 2005 May 11; 25 (19): 4681–93.
30. Fitzsimmons NA, Lebedev MA, Peikon ID, Nicolelis MA. Extracting kinematic parameters for monkey bipedal walking from cortical neuronal ensemble activity. *Front Integr Neurosci.* 2009 Mar 9; 3:3. doi: 10.3389/neuro.07.003.2009.
31. Ifft PJ, Shokur S, Li Z, Lebedev MA, Nicolelis MA. A brain-machine interface enables bimanual arm movements in monkeys. *Sci Transl Med.* 2013 Nov 6; 5 (210): 210ra154.
32. Kennedy PR, Bakay RA. Restoration of neural output from a paralyzed patient by a direct brain connection. *Neuroreport.* 1998 Jun 1; 9 (8): 1707–11.
33. Taylor DM, Tillery SI, Schwartz AB. Direct cortical control of 3D neuroprosthetic devices. *Science.* 2002; 296 (5574): 1829–32.
34. Mountcastle VB. *The sensory hand: neural mechanisms of somatic sensation.* Cambridge, MA: Harvard University Press; 2005. 640 p.
35. Hubel D.H., Wiesel T.N. (2005). *Brain and visual perception: the story of a 25-year collaboration.* 744 pp. Oxford University Press.
36. Wise SP. *The primate premotor cortex: past, present, and preparatory.* *Annu Rev Neurosci.* 1985; 8: 1–19.
37. Kalaska JF, Scott SH, Cisek P, Sergio LE. Cortical control of

- reaching movements. *Curr Opin Neurobiol.* 1997; 7 (6): 849–59.
38. Georgopoulos AP, Kalaska JF, Caminiti R, Massey JT. On the relations between the direction of two-dimensional arm movements and cell discharge in primate motor cortex. *J Neurosci.* 1982 Nov; 2 (11): 1527–37.
  39. Georgopoulos AP, Lurito JT, Petrides M, Schwartz AB, Massey JT. Mental rotation of the neuronal population vector. *Science.* 1989 Jan 13; 243 (4888): 234–6.
  40. Moritz CT, Perlmutter SI, Fetz EE. Direct control of paralysed muscles by cortical neurons. *Nature.* 2008 Dec 4; 456 (7222): 639–42.
  41. Quiroga RQ, Reddy L, Kreiman G, Koch C, Fried I. Invariant visual representation by single neurons in the human brain. *Nature.* 2005 Jun 23; 435 (7045): 1102–7.
  42. Haykin S. *Adaptive filter theory.* 4th ed. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice Hall; 2002. 936 p.
  43. Sussillo D, Nuyujukian P, Fan JM, Kao JC, Stavisky SD, Ryu S, Shenoy K. A recurrent neural network for closed-loop intracortical brain-machine interface decoders. *J Neural Eng.* 2012 Apr; 9 (2): 026027. doi: 10.1088/1741-2560/9/2/026027.
  44. Birbaumer N, Ghanayim N, Hinterberger T, Iversen I, Kotchoubey B, Kübler A, et al. A spelling device for the paralysed. *Nature.* 1999 Mar 25; 398 (6725): 297–8.
  45. Birbaumer N, Murguialday AR, Cohen L. Brain-computer interface in paralysis. *Curr Opin Neurol.* 2008 Dec; 21 (6): 634–8.
  46. Sherrington CS. *The integrative action of the nervous system.* New York: Charles Scribner's Sons; 1906. 445 p.
  47. Guertin PA. The mammalian central pattern generator for locomotion. *Brain Res Rev.* 2009 Dec 11; 62 (1): 45–56.
  48. Cordo PJ, Gurfinkel VS. Motor coordination can be fully understood only by studying complex movements. *Prog Brain Res.* 2004; 143: 29–38.
  49. Head H, Holmes G. Sensory disturbances from cerebral lesions. *Brain.* 1911 Nov 1; 34 (2–3): 102–254.
  50. Kawato M. Internal models for motor control and trajectory planning. *Curr Opin Neurobiol.* 1999 Dec 1; 9 (6): 718–27.
  51. Feldman AG, Ostry DJ, Levin MF, Gribble PL, Mitnitski AB. Recent tests of the equilibrium-point hypothesis (lambda model). *Motor Control.* 1998 Jul; 2 (3): 189–205.
  52. Velliste M, Perel S, Spalding MC, Whitford AS, Schwartz AB. Cortical control of a prosthetic arm for self-feeding. *Nature.* 2008 Jun 19; 453 (7198): 1098–101.
  53. Левицкая О. С., Крылов Н. В., Капырин Н. И. Костюм функциональной электростимуляция для нейрореабилитации с применением виртуальной реальности [Интернет]. Сколково Роботикс sk-news. Март 2014 [дата обращения: февраль 2016].
  54. Pfurtscheller G, Müller GR, Pfurtscheller J, Gerner HJ, Rupp R. 'Thought'-control of functional electrical stimulation to restore hand grasp in a patient with tetraplegia. *Neurosci. Lett.* 2003 Nov 6; 351 (1): 33–6.
  55. Ethier C, Oby ER, Bauman MJ, Miller LE. Restoration of grasp following paralysis through brain-controlled stimulation of muscles. *Nature.* 2012 May 17; 485 (7398): 368–71.
  56. Pohlmeier EA, Oby ER, Perreault EJ, Solla SA, Kilgore KL, Kirsch RF, Miller LE. Toward the restoration of hand use to a paralyzed monkey: brain-controlled functional electrical stimulation of forearm muscles. *PLoS One.* 2009 Jun 15; 4 (6): e5924.
  57. Hick C, Hick A. *Intensivkurs Physiologie.* 5th ed. München-Jena: Urban&Fischer; 2006. 434 p.
  58. Cheron G, Duvinage M, De Saedeleer C, Castermans T, Bengoetxea A, Petieau M, et al. From spinal central pattern generators to cortical network: integrated BCI for walking rehabilitation. *Neural Plast.* 2012; 2012: 375148.
  59. Presacco A, Forrester LW, Contreras-Vidal JL. Decoding intralimb and interlimb kinematics during treadmill walking from scalp electroencephalographic (EEG) signals. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng.* 2012 Mar; 20 (2): 212–9.
  60. Exoatlet.ru [Internet]. Moscow: ExoAtlet LLC; c2014-2015. Available from: <http://www.exoatlet.ru>.
  61. Courtine G, Gerasimenko Y, van den Brand R, Yew A, Musienko P, Zhong H, et al. Transformation of nonfunctional spinal circuits into functional states after the loss of brain input. *Nat Neurosci.* 2009 Oct 1; 12 (10): 1333–42.
  62. Nicolelis MA. *Beyond Boundaries: The New Neuroscience of Connecting Brains with Machines — and How It Will Change Our Lives.* New York: Times Books; 2011. 354 p.
  63. Iriki A, Tanaka M, Iwamura Y. Coding of modified body schema during tool use by macaque postcentral neurones. *Neuroreport.* 1996 Oct; 7 (14): 2325–30.
  64. Zacksenhouse M, Lebedev MA, Carmena JM, O'Doherty JE, Henriquez C, Nicolelis MA. Cortical modulations increase in early sessions with brain-machine interface. *PLoS One.* 2011 Jul 18; 2 (7): e619.
  65. Galán F, Nuttin M, Lew E, Ferrez PW, Vanacker G, Phillips J, Millán JR. A brain-actuated wheelchair: asynchronous and non-invasive brain-computer interfaces for continuous control of robots. *Clin Neurophysiol.* 2008 Sep 13; 119 (9): 2159–69.
  66. Müller-Putz GR, Gernot R, Pfurtscheller G. Control of an electrical prosthesis with an SSVEP-based BCI. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2008 Jan; 55 (1): 361–4.
  67. Nicolas-Alonso LF, Gomez-Gil J. Brain computer interfaces, a review. *Sensors (Basel).* 2012; 12 (2): 1211–79.
  68. Sellers EW, Vaughan TM, Wolpaw JR. A brain-computer interface for long-term independent home use. *Amyotroph Lateral Scler.* 2010 Oct; 11 (5): 449–55.
  69. Wolpaw JR, McFarland DJ. Control of a two-dimensional movement signal by a noninvasive brain-computer interface in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Dec 21; 105 (51): 17849–54.
  70. Vialatte FB, Maurice M, Dauwels J, Cichocki A. Steady-state visually evoked potentials: focus on essential paradigms and future perspectives. *Prog Neurobiol.* 2010 Apr; 90 (4): 418–38.
  71. Farwell LA, Donchin E. Talking off the top of your head: toward a mental prosthesis utilizing event-related brain potentials. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1988; 70 (6): 510–23.
  72. Mellinger J, Schalk G, Braun C, Preissl H, Rosenstiel W, Birbaumer N, Kübler A. An MEG-based brain-computer interface (BCI). *Neuroimage.* 2007 Jul 1; 36 (3): 581–93.
  73. Sitaram R, Caria A, Birbaumer N. Hemodynamic brain-computer interfaces for communication and rehabilitation. *Neural Netw.* 2009 Nov; 22 (9): 1320–8.
  74. Barton JJ. Disorder of higher visual function. *Curr Opin Neurol.* 2009 Feb; 24 (1): 1–5.
  75. Romo R, Hernández A, Zainos A, Brody CD, Lemus L. Sensing without touching: psychophysical performance based on cortical microstimulation. *Neuron.* 2000 Apr; 26 (1): 273–78.
  76. Fitzsimmons NA, Drake W, Hanson TL, Lebedev MA, Nicolelis MA. Primate reaching cued by multichannel spatiotemporal cortical microstimulation. *J Neurosci.* 2007 May 23; 27 (21): 5593–602.
  77. Zhang F, Aravanis AM, Adamantidis A, de Lecea L, Deisseroth K. Circuit-breakers: optical technologies for probing neural signals and systems. *Nat Rev Neurosci.* 2007 Aug; 8 (8): 577–81. Erratum in: *Nat Rev Neurosci.* 2007 Sep; 8 (9): 732.
  78. Jones LA. Tactile communication systems optimizing the display of information. *Prog Brain Res.* 2011; 192:113–28.
  79. Fernandes RA, Diniz B, Ribeiro R, Humayun M. Artificial vision through neuronal stimulation. *Neurosci Lett.* 2012 Jun 25; 519 (2): 122–8.
  80. O'Doherty JE, Lebedev M, Hanson TL, Fitzsimmons N, Nicolelis MA. A brain-machine interface instructed by direct intracortical microstimulation. *Front Integr Neurosci.* 2009 Sep 1; 3: 20.
  81. Ramakrishnan A, Ifft PJ, Pais-Vieira M, Byun YW, Zhuang KZ, Lebedev MA, Nikolelis MA. Computing arm movements with a monkey brained. *Sci Rep.* 2015 Jul 9; 5: 10767.

## References

- Lebedev MA, Nicolelis MA. Brain-machine interfaces: past, present and future. *Trends Neurosci.* 2006 Sep; 29 (9): 536–46. Epub 2006 Jul 21.
- Nicolelis MA, Lebedev MA. Principles of neural ensemble physiology underlying the operation of brain-machine interfaces. *Nat Rev Neurosci.* 2009 Jul; 10 (7): 530–40.
- Schwartz AB, Cui XT, Weber DJ, Moran DW. Brain-controlled interfaces: movement restoration with neural prosthetics. *Neuron.* 2006 Oct 5; 52 (1): 205–20.
- McFarland DJ, Krusienski DJ, Wolpaw JR. Brain-computer interface signal processing at the Wadsworth Center: mu and sensorimotor beta rhythms. *Prog Brain Res.* 2006; 159: 411–9.
- Hatsopoulos NG, Donoghue JP. The science of neural interface systems. *Annu Rev Neurosci.* 2009; 32: 249–66.
- Bouton CE, Shaikhouni A, Annetta NV, Bockbrader MA, Friedenber DA, Nielson DM, et al. Restoring cortical control of functional movement in a human with quadriplegia. *Nature.* 2016 Apr 13. doi: 10.1038/nature17435.
- Collinger JL, Wodlinger B, Downey JE, Wang W, Tyler-Kabara EC, Weber DJ, et al. High-performance neuroprosthetic control by an individual with tetraplegia. *Lancet.* 2013 Feb 16; 381 (9886): 557–64.
- Hochberg LR, Serruya MD, Friehs GM, Mukand JA, Saleh M, Caplan AH, et al. Neuronal ensemble control of prosthetic devices by a human with tetraplegia. *Nature.* 2006 Jul 13; 442 (7099): 164–71.
- Hochberg LR, Bacher D, Jarosiewicz B, Masse NY, Simeral JD, Vogel J, et al. Reach and grasp by people with tetraplegia using a neurally controlled robotic arm. *Nature.* 2012 May 16; 485 (7398): 372–5.
- Tangermann M, Krauledat M, Grzeska K, Sagebaum M, Blankertz B, Vidaurre C, Müller KR. Playing pinball with non-invasive BCI. In: Koller D, Schuurmans D, Bengio Y, editors. *Advances in Neural Information Processing Systems 21. Neural Information Processing Systems*; 2008 Dec 8–11; Vancouver and Whistler, BC, Canada. Cambridge, MA: MIT Press; 2009. p. 1641–8.
- Lin CT, Chang CJ, Lin BS, Hung SH, Chao CF, Wang IJ. A real-time wireless brain-computer interface system for drowsiness detection. *IEEE Trans Biomed Circuits Syst.* 2010 Aug; 4 (4): 214–22.
- Virtual'naya real'nost' i kotiki na khakatone Microsoft i Skolkovo [Internet]. Habrahabr. 2015 Jan. Available from: <https://habrahabr.ru/company/microsoft/blog/275837/>. Russian.
- Shannon RV. Advances in auditory prostheses. *Curr Opin Neurol.* 2012 Feb; 25 (1): 61–6.
- Wilson BS, Dorman MF. Cochlear implants: a remarkable past and a brilliant future. *Hear Res.* 2008 Aug; 242 (1–2): 3–21.
- Lilly JC. Distribution of 'motor' functions in the cerebral cortex in the conscious, intact monkey. *Science.* 1956; 124: 937.
- Evarts EV. Motor cortex reflexes associated with learned movement. *Science.* 1973; 179: 501–3.
- O'Doherty JE, Lebedev MA, Ifft PJ, Zhuang KZ, Shokur S, Bleuler H, Nicolelis MA. Active tactile exploration using a brain-machine-brain interface. *Nature.* 2011 Oct 5; 479 (7372): 228–31.
- Lilly JC. Instantaneous relations between the activities of closely spaced zones on the cerebral cortex; electrical figures during responses and spontaneous activity. *Am J Physiol.* 1954; 176: 493–504.
- Dennett DC. *Consciousness explained.* London, UK: Penguin UK; 1993. 528 p.
- Frank K. Some approaches to the technical problem of chronic excitation of peripheral nerve. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1968 Aug; 77 (4): 761–71.
- Humphrey DR, Schmidt EM, Thompson WD. Predicting measures of motor performance from multiple cortical spike trains. *Science.* 1970 Nov 13; 170 (3959): 758–62.
- Schmidt EM. Single neuron recording from motor cortex as a possible source of signals for control of external devices. *Ann Biomed Eng.* 1980; 8 (4–6): 339–49.
- Fetz EE. Operant conditioning of cortical unit activity. *Science.* 1969 Feb 28; 163 (3870): 955–8.
- Brindley GS, Lewin WS. The sensations produced by electrical stimulation of the visual cortex. *J. Physiol.* 1968 May; 196 (2): 479–93.
- Dobelle WH, Mladejovsky MG, Girvin JP. Artificial vision for the blind: electrical stimulation of visual cortex offers hope for a functional prosthesis. *Science.* 1974 Feb 1; 183 (4123): 440–4.
- Chapin JK, Moxon KA, Markowitz RS, Nicolelis MA. Real-time control of a robot arm using simultaneously recorded neurons in the motor cortex. *Nat Neurosci.* 1999 Jul; 2 (7): 664–70.
- Wessberg J, Stambaugh CR, Kralik JD, Beck PD, Laubach M, Chapin JK, et al. Real-time prediction of hand trajectory by ensembles of cortical neurons in primates. *Nature.* 2000 Nov 16; 408 (6810): 361–5.
- Carmena JM, Lebedev MA, Crist RE, O'Doherty JE, Santucci DM, Dimitrov DF, et al. Learning to control a brain-machine interface for reaching and grasping by primates. *PLoS Biol.* 2003; 1 (2): e42. doi:10.1371/journal.pbio.0000042.
- Lebedev MA, Carmena JM, O'Doherty JE, Zacksenhouse M, Henriquez CS, Principe JC, Nicolelis MA. Cortical ensemble adaptation to represent velocity of an artificial actuator controlled by a brain-machine interface. *J Neurosci.* 2005 May 11; 25 (19): 4681–93.
- Fitzsimmons NA, Lebedev MA, Peikon ID, Nicolelis MA. Extracting kinematic parameters for monkey bipedal walking from cortical neuronal ensemble activity. *Front Integr Neurosci.* 2009 Mar 9; 3:3. doi: 10.3389/neuro.07.003.2009.
- Ifft PJ, Shokur S, Li Z, Lebedev MA, Nicolelis MA. A brain-machine interface enables bimanual arm movements in monkeys. *Sci Transl Med.* 2013 Nov 6; 5 (210): 210ra154.
- Kennedy PR, Bakay RA. Restoration of neural output from a paralyzed patient by a direct brain connection. *Neuroreport.* 1998 Jun 1; 9 (8): 1707–11.
- Taylor DM, Tillery SI, Schwartz AB. Direct cortical control of 3D neuroprosthetic devices. *Science.* 2002; 296 (5574): 1829–32.
- Mountcastle VB. *The sensory hand: neural mechanisms of somatic sensation.* Cambridge, MA: Harvard University Press; 2005. 640 p.
- Hubel D.H., Wiesel T.N. (2005). *Brain and visual perception: the story of a 25-year collaboration.* 744 pp. Oxford University Press.
- Wise SP. The primate premotor cortex: past, present, and preparatory. *Annu Rev Neurosci.* 1985; 8: 1–19.
- Kalaska JF, Scott SH, Cisek P, Sergio LE. Cortical control of reaching movements. *Curr Opin Neurobiol.* 1997; 7 (6): 849–59.
- Georgopoulos AP, Kalaska JF, Caminiti R, Massey JT. On the relations between the direction of two-dimensional arm movements and cell discharge in primate motor cortex. *J Neurosci.* 1982 Nov; 2 (11): 1527–37.
- Georgopoulos AP, Lurito JT, Petrides M, Schwartz AB, Massey JT. Mental rotation of the neuronal population vector. *Science.* 1989 Jan 13; 243 (4888): 234–6.
- Moritz CT, Perlmutter SI, Fetz EE. Direct control of paralysed muscles by cortical neurons. *Nature.* 2008 Dec 4; 456 (7222): 639–42.
- Quiroga RQ, Reddy L, Kreiman G, Koch C, Fried I. Invariant visual representation by single neurons in the human brain. *Nature.* 2005 Jun 23; 435 (7045): 1102–7.
- Haykin S. *Adaptive Filter Theory.* 4th ed. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice Hall; 2002. 936 p.
- Sussillo D, Nuyujukian P, Fan JM, Kao JC, Stavisky SD, Ryu S, Shenoy K. A recurrent neural network for closed-loop intracortical brain-machine interface decoders. *J Neural Eng.* 2012 Apr; 9 (2): 026027. doi: 10.1088/1741-2560/9/2/026027.
- Birbaumer N, Ghanayim N, Hinterberger T, Iversen I, Kotchoubey B, Kübler A, et al. A spelling device for the paralysed. *Nature.* 1999 Mar 25; 398 (6725): 297–8.
- Birbaumer N, Murguialday AR, Cohen L. Brain-computer interface in paralysis. *Curr Opin Neurol.* 2008 Dec; 21 (6): 634–8.
- Sherrington CS. *The integrative action of the nervous system.* New York: Charles Scribner's Sons; 1906. 445 p.
- Guertin PA. The mammalian central pattern generator for

- locomotion. *Brain Res Rev.* 2009 Dec 11; 62 (1): 45–56.
48. Cordo PJ, Gurfinkel VS. Motor coordination can be fully understood only by studying complex movements. *Prog Brain Res.* 2004; 143: 29–38.
  49. Head H, Holmes G. Sensory disturbances from cerebral lesions. *Brain.* 1911 Nov 1; 34 (2–3): 102–254.
  50. Kawato M. Internal models for motor control and trajectory planning. *Curr Opin Neurobiol.* 1999 Dec 1; 9 (6): 718–27.
  51. Feldman AG, Ostry DJ, Levin MF, Gribble PL, Mitnitski AB. Recent tests of the equilibrium-point hypothesis ( $\lambda$  model). *Motor Control.* 1998 Jul; 2 (3): 189–205.
  52. Velliste M, Perel S, Spalding MC, Whitford AS, Schwartz AB. Cortical control of a prosthetic arm for self-feeding. *Nature.* 2008 Jun 19; 453 (7198): 1098–101.
  53. Levitskaya OS, Krylov NV, Kapyrin NI. Kostyum funktsional'noy elektrostimulyatsii dlya neiroreabilitatsii s primeneniem virtual'noy real'nosti [Internet]. *Skolkovo Robotics sk-news.* 2014 Mar [cited 2016 Feb]. Russian.
  54. Pfurtscheller G, Müller GR, Pfurtscheller J, Gerner HJ, Rupp R. 'Thought'-control of functional electrical stimulation to restore hand grasp in a patient with tetraplegia. *Neurosci. Lett.* 2003 Nov 6; 351 (1): 33–6.
  55. Ethier C, Oby ER, Bauman MJ, Miller LE. Restoration of grasp following paralysis through brain-controlled stimulation of muscles. *Nature.* 2012 May 17; 485 (7398): 368–71.
  56. Pohlmeier EA, Oby ER, Perreault EJ, Solla SA, Kilgore KL, Kirsch RF, Miller LE. Toward the restoration of hand use to a paralyzed monkey: brain-controlled functional electrical stimulation of forearm muscles. *PLoS One.* 2009 Jun 15; 4 (6): e5924.
  57. Hick C, Hick A. *Intensivkurs Physiologie.* 5th ed. München–Jena: Urban&Fischer; 2006. 434 p.
  58. Cheron G, Duvinage M, De Saedeleer C, Castermans T, Bengoetxea A, Petieau M, et al. From spinal central pattern generators to cortical network: integrated BCI for walking rehabilitation. *Neural Plast.* 2012; 2012: 375148.
  59. Presacco A, Forrester LW, Contreras-Vidal JL. Decoding intra-limb and inter-limb kinematics during treadmill walking from scalp electroencephalographic (EEG) signals. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng.* 2012 Mar; 20 (2): 212–9.
  60. Exoatlet.ru [Internet]. Moscow: ExoAtlet LLC; c2014-2015. Available from: <http://www.exoatlet.ru>.
  61. Courtine G, Gerasimenko Y, van den Brand R, Yew A, Musienko P, Zhong H, et al. Transformation of nonfunctional spinal circuits into functional states after the loss of brain input. *Nat Neurosci.* 2009 Oct 1; 12 (10): 1333–42.
  62. Nicolelis MA. *Beyond Boundaries: The New Neuroscience of Connecting Brains with Machines — and How It Will Change Our Lives.* New York: Times Books; 2011. 354 p.
  63. Iriki A, Tanaka M, Iwamura Y. Coding of modified body schema during tool use by macaque postcentral neurones. *Neuroreport.* 1996 Oct; 7 (14): 2325–30.
  64. Zacksenhouse M, Lebedev MA, Carmena JM, O'Doherty JE, Henriquez C, Nicolelis MA. Cortical modulations increase in early sessions with brain-machine interface. *PLoS One.* 2011 Jul 18; 2 (7): e619.
  65. Galán F, Nuttin M, Lew E, Ferrez PW, Vanacker G, Phillips J, Millán JR. A brain-actuated wheelchair: asynchronous and non-invasive brain-computer interfaces for continuous control of robots. *Clin Neurophysiol.* 2008 Sep 13; 119 (9): 2159–69.
  66. Müller-Putz GR, Gernot R, Pfurtscheller G. Control of an electrical prosthesis with an SSVEP-based BCI. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2008 Jan; 55 (1): 361–4.
  67. Nicolas-Alonso LF, Gomez-Gil J. Brain computer interfaces, a review. *Sensors (Basel).* 2012; 12 (2): 1211–79.
  68. Sellers EW, Vaughan TM, Wolpaw JR. A brain-computer interface for long-term independent home use. *Amyotroph Lateral Scler.* 2010 Oct; 11 (5): 449–55.
  69. Wolpaw JR, McFarland DJ. Control of a two-dimensional movement signal by a noninvasive brain-computer interface in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Dec 21; 105 (51): 17849–54.
  70. Vialatte FB, Maurice M, Dauwels J, Cichocki A. Steady-state visually evoked potentials: focus on essential paradigms and future perspectives. *Prog Neurobiol.* 2010 Apr; 90 (4): 418–38.
  71. Farwell LA, Donchin E. Talking off the top of your head: toward a mental prosthesis utilizing event-related brain potentials. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1988; 70 (6): 510–23.
  72. Mellinger J, Schalk G, Braun C, Preissl H, Rosenstiel W, Birbaumer N, Kübler A. An MEG-based brain-computer interface (BCI). *Neuroimage.* 2007 Jul 1; 36 (3): 581–93.
  73. Sitaram R, Caria A, Birbaumer N. Hemodynamic brain-computer interfaces for communication and rehabilitation. *Neural Netw.* 2009 Nov; 22 (9): 1320–8.
  74. Barton JJ. Disorder of higher visual function. *Curr Opin Neurol.* 2009 Feb; 24 (1): 1–5.
  75. Romo R, Hernández A, Zainos A, Brody CD, Lemus L. Sensing without touching: psychophysical performance based on cortical microstimulation. *Neuron.* 2000 Apr; 26 (1): 273–78.
  76. Fitzsimmons NA, Drake W, Hanson TL, Lebedev MA, Nicolelis MA. Primate reaching cued by multichannel spatiotemporal cortical microstimulation. *J Neurosci.* 2007 May 23; 27 (21): 5593–602.
  77. Zhang F, Aravanis AM, Adamantidis A, de Lecea L, Deisseroth K. Circuit-breakers: optical technologies for probing neural signals and systems. *Nat Rev Neurosci.* 2007 Aug; 8 (8): 577–81. Erratum in: *Nat Rev Neurosci.* 2007 Sep; 8 (9): 732.
  78. Jones LA. Tactile communication systems optimizing the display of information. *Prog Brain Res.* 2011; 192:113–28.
  79. Fernandes RA, Diniz B, Ribeiro R, Humayun M. Artificial vision through neuronal stimulation. *Neurosci Lett.* 2012 Jun 25; 519 (2): 122–8.
  80. O'Doherty JE, Lebedev M, Hanson TL, Fitzsimmons N, Nicolelis MA. A brain-machine interface instructed by direct intracortical microstimulation. *Front Integr Neurosci.* 2009 Sep 1; 3: 20.
  81. Ramakrishnan A, Ifft PJ, Pais-Vieira M, Byun YW, Zhuang KZ, Lebedev MA, Nicolelis MA. Computing arm movements with a monkey brain. *Sci Rep.* 2015 Jul 9; 5: 10767.

## ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КОНТРОЛИРУЕМОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕХНОЛОГИИ ИМК–ЭКЗОСКЕЛЕТ ПРИ ПОСТИНСУЛЬТНОМ ПАРЕЗЕ РУКИ

А. А. Фролов<sup>1,2</sup>, О. А. Мокиенко<sup>1,3</sup>✉, Р. Х. Люкманов<sup>1,3</sup>, Л. А. Черникова<sup>3</sup>, С. В. Котов<sup>4</sup>, Л. Г. Турбина<sup>4</sup>, П. Д. Бобров<sup>1,2</sup>, Е. В. Бирюкова<sup>1,2</sup>, А. А. Кондур<sup>4</sup>, Г. Е. Иванова<sup>1</sup>, А. Н. Старицын<sup>1</sup>, Ю. В. Бушкова<sup>1</sup>, И. З. Джалагония<sup>2</sup>, М. Е. Курганская<sup>2,3</sup>, О. Г. Павлова<sup>2</sup>, С. Ю. Будилин<sup>2</sup>, Г. А. Азиатская<sup>3</sup>, А. Е. Хижникова<sup>3</sup>, А. В. Червяков<sup>3</sup>, А. Л. Лукьянов<sup>5</sup>, Г. Г. Надарейшвили<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

<sup>2</sup> Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

<sup>3</sup> Научный центр неврологии, Москва

<sup>4</sup> Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М. Ф. Владимирского, Москва

<sup>5</sup> Городская клиническая больница № 31, Москва

В статье представлены предварительные результаты исследования iMove. На момент публикации получены данные по 47 пациентам. Основная группа (n = 36) пациентов проходила обучение кинестетическому воображению движения под контролем интерфейса мозг–компьютер (ИМК) с управляемым экзоскелетом. В контрольной группе проводили процедуры имитации ИМК. В среднем пациенты прошли 9 тренировок длительностью до 40 мин. По завершении тренировок только в основной группе выявлено улучшение по параметрам [Me (25 %; 75 %)] шаровой хват кисти — с 0,5 (0,0; 13,0) до 3,0 (0,0; 15,5) балла (p = 0,003) и щипковый хват пальцев кисти — с 0,5 (0,0; 7,5) до 1,0 (0,0; 12,0) балла (p = 0,005) по шкале ARAT. В основной группе клинически значимое улучшение двигательной функции по шкале ARAT показали 33,3 % пациентов, а по шкале Fugl-Meyer — 30,5 %. В контрольной группе эти показатели были меньше: 9,1 и 18,2 % пациентов соответственно.

**Ключевые слова:** реабилитация, инсульт, парез, экзоскелет, интерфейс мозг–компьютер, воображение движения

**Финансирование:** исследование поддержано Министерством образования и науки Российской Федерации (Соглашение о предоставлении субсидии от 27.10.2015 № 14.607.21.0128), грантами РФФИ № 16-04-01506а и 16-04-00962а.

✉ **Для корреспонденции:** Олеся Александровна Мокиенко  
125367, Москва, Волоколамское шоссе, д. 80, каб. 133; lesya.md@yandex.ru

**Статья поступила:** 30.03.2016 **Статья принята к печати:** 07.04.2016

## PRELIMINARY RESULTS OF A CONTROLLED STUDY OF BCI–EXOSKELETON TECHNOLOGY EFFICACY IN PATIENTS WITH POSTSTROKE ARM PARESIS

Frolov AA<sup>1,2</sup>, Mokienko OA<sup>1,3</sup>✉, Lyukmanov RK<sup>1,3</sup>, Chernikova LA<sup>3</sup>, Kotov SV<sup>4</sup>, Turbina LG<sup>4</sup>, Bobrov PD<sup>1,2</sup>, Biryukova EV<sup>1,2</sup>, Kondur AA<sup>4</sup>, Ivanova GE<sup>1</sup>, Staritsyn AN<sup>1</sup>, Bushkova YuV<sup>1</sup>, Dzhalaqoniya IZ<sup>2</sup>, Kurganskaya ME<sup>2,3</sup>, Pavlova OG<sup>2</sup>, Budilin SYu<sup>2</sup>, Aziatskaya GA<sup>3</sup>, Khizhnikova AE<sup>3</sup>, Chervyakov AV<sup>3</sup>, Lukyanov AL<sup>5</sup>, Nadareyshvily GG<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, RAS, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Research Center of Neurology, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russia

<sup>5</sup> Municipal Clinical Hospital no.31, Moscow, Russia

The article presents preliminary results of iMove research study. By the time of this publication, the data of 47 patients have been processed. The patients in the experimental group (n = 36) were trained in kinesthetic motor imagery using the brain-computer interface (BCI) and a controllable exoskeleton. In the control group, BCI imitation procedures were carried out. In average, the patients had 9 training sessions with a duration of up to 40 minutes. On completing the training, only the experimental group showed improvement in scores (results are presented as median and quartiles (25 %; 75 %)): grasp score increased from 0.5 (0.0; 13.0) to 3.0 (0.0; 15.5) points (p = 0.003) and pinch score increased from 0.5 (0.0; 7.5) to 1.0 (0.0; 12.0) points (p = 0.005) on ARAT scale. In the experimental group, a significant improvement in motor function was found in 33.3 % patients on ARAT scale, and in 30.5 % patients on Fugl-Meyer scale. In the control group those scores were lower: 9.1 % and 18.2 % patients, respectively.

**Keywords:** rehabilitation, stroke, paresis, exoskeleton, brain-computer interface, motor imagery

**Funding:** the study was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (Grant Agreement no. 14.607.21.0128 dated October 27, 2015), Russian Foundation Basic Research grants no. 16-04-01506a and 16-04-00962a.

✉ **Correspondence should be addressed:** Olesya A. Mokienko  
Volokolamskoye shosse, d. 80, kab.133, Moscow, Russia, 125367; lesya.md@yandex.ru

**Received:** 30.03.2016 **Accepted:** 07.04.2016

Одним из приоритетных направлений среди исследований в области нейрореабилитации является изучение подходов к восстановлению функции верхней конечности при постинсультном гемипарезе [1, 2]. Однако ни одному из существующих методов двигательной реабилитации не присвоены наивысшие уровни доказательности и степень рекомендации в отношении восстановления функции руки. Средним уровнем доказательности в отношении восстановления функции руки после инсульта обладают технология виртуальной реальности, роботизированные методики (за счет обеспечения большого количества повторов движений), терапия, основанная на ограничении (за счет максимально возможного вовлечения пораженной конечности в функциональные, прикладные движения), а также «мысленные тренировки», в частности воображение движения [1, 2]. Следует подчеркнуть, что в отличие от воображения движения методы с активными двигательными парадигмами, такие как роботизированные технологии и терапия, основанная на ограничении, применимы только при парезе легкой или средней степени тяжести. В случае пlegии или грубого пареза роботизированная терапия часто представляет собой лишь пассивную механотерапию.

Характер влияния процесса воображения движения на активность двигательной нервной системы и нейропластичность уже продемонстрирован в многочисленных нейрофизиологических исследованиях. Показано, что во время воображения движения происходит активация первичной моторной коры и структур головного мозга, участвующих в планировании и контроле произвольных движений [3–6]. В исследовании с применением навигационной транскраниальной магнитной стимуляции мозга у испытуемых, прошедших тренировки воображения движения, наблюдалось снижение порога возбудимости двигательной коры и увеличение вызванных моторных ответов заинтересованных мышц во время воображения сжатия кисти в кулак [4].

Таким образом, воображение движения является единственной активной парадигмой для модуляции процессов нейропластичности в двигательных зонах головного мозга при пlegии и грубом парезе [3, 4, 7, 8]. Тренировки воображения движения также могут применяться и в реабилитации пациентов с легкими двигательными нарушениями для обучения более правильному планированию движения и повышению точности его выполнения [9]. Контролировать процесс воображения движения с предъявлением кинестетической обратной связи можно при помощи технологии интерфейс мозг–компьютер–экзоскелет (ИМК–экзоскелет). Интерфейс мозг–компьютер (ИМК) позволяет преобразовывать сигналы активности мозга в команды внешнему техническому устройству [10, 11]. В случае воображения движения таким сигналом служит модуляция сенсорно-моторного ритма [12]. Когда внешним техническим устройством является экзоскелет конечности, оператор ИМК получает кинестетическую обратную связь (при этом воображать необходимо то движение, которое может реализовать экзоскелет).

Уже проведено несколько контролируемых исследований эффективности неинвазивного ИМК с применением внешних ассистирующих устройств, реализующих кинестетическую обратную связь. В этих исследованиях принимали участие до 32 пациентов с постинсультным парезом руки, а в качестве внешнего устройства использовали технологию Haptic Knob [13], MIT-Manus [14] или ортез [15], по своей конструкции не являющиеся экзоскелетами.

В России также проведены клинические исследования эффективности технологии ИМК с предъявлением кинес-

тетической обратной связи с помощью экзоскелета кисти [16–18]. В работе Бирюковой и соавт. [19] рассмотрен отдельный клинический случай. Однако в перечисленных исследованиях не было сравнения с контрольной группой пациентов. Кроме того, на данный момент не изучена клиническая эффективность тренировок по управлению технологией ИМК–внешнее ассистирующее устройство у пациентов в разные восстановительные периоды, с разной степенью пареза руки; не исследован эффект повторных тренировок с технологией ИМК–внешнее ассистирующее устройство.

В данной работе представлены предварительные результаты многоцентрового слепого рандомизированного контролируемого исследования эффективности применения технологии «Экзоскелет кисти руки, управляемый неинвазивным интерфейсом мозг–компьютер» в комплексной реабилитации пациентов с последствиями нарушения мозгового кровообращения. Данное исследование продолжается до включения в общей сложности 120 пациентов.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Проведение исследования было одобрено Этическим комитетом Научного центра неврологии (протокол от 10.12.2014 № 12/14). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования iMove зарегистрирован в международном реестре клинических исследований Национального института здоровья США ClinicalTrials.gov (Identifier: NCT02325947).

Данное слепое рандомизированное контролируемое исследование проводится на базе трех центров с декабря 2014 г. Критериями выбора центров были наличие отделения нейрореабилитации или службы двигательной реабилитации и поток пациентов с разной давностью перенесенного инсульта и гемипарезами разной степени выраженности.

Критерии включения в исследование: пациенты мужского или женского пола в возрасте от 18 до 80 лет с перенесенным инсультом давностью от 1 мес. до 2 лет; с постинсультным парезом руки от легкой степени тяжести до пlegии по Британской шкале оценки мышечной силы (Medical Research Council Weakness Scale sums core, MRC-SS [20]); с единственным очагом инсульта ишемического или геморрагического характера супратенториальной локализации (по данным МРТ или КТ); подписавшие информированное согласие. Пациенты могли быть госпитализированы в исследовательские центры либо получать терапию на амбулаторной основе.

Критерии не включения в исследование: леворукость по данным Эдинбургского опросника мануальной асимметрии (Edinburgh Handedness Inventory [21]); тяжелое нарушение когнитивных функций — менее 10 баллов по Монреальской шкале когнитивной оценки (Montreal Cognitive Assessment, MoCA [22]); сенсорная афазия; грубая моторная афазия; грубое нарушение зрения, не позволяющее выполнять предъявляемые визуально инструкции на экране компьютера; наличие мышечной контрактуры в руке — 4 балла по модифицированной шкале Ашворта (Modified Ashworth Scale, MAS [23]).

Критерии исключения из исследования: отказ пациента от продолжения участия в исследовании; развитие острого или декомпенсация хронического заболевания с риском потенциального влияния на результаты исследования (повторное нарушение мозгового кровообращения, острый инфаркт миокарда, декомпенсация сахарного диабета и

прочее); назначение системных миорелаксантов (изменение их дозировки после включения в исследование); введение препаратов ботулинического токсина в мышцы паретичной руки после включения пациента в исследование.

Данные осмотра пациента, подписавшего информированное согласие на участие в исследовании и удовлетворяющего критериям включения/исключения, вносят в автоматизированную систему информационного сопровождения клинического исследования компании «ИмэджериСофт» (Россия), где участнику исследования присваивается идентификационный номер. Затем происходит рандомизация с определением группы исследования (основная или контрольная) в соотношении 3 : 1.

Пациенты основной группы проходят тренировки с технологией «ИМК-экзоскелет», а пациенты контрольной группы — с имитатором данной технологии. Всего в каждой группе до 12 тренировок длительностью до 40 мин, ежедневно кроме выходных дней (допустимый интервал — до 3 дней). С пациентами обеих групп также проводят стандартные реабилитационные мероприятия: лечебную гимнастику с инструктором, массаж.

В исследовании используется ИМК, основанный на анализе паттернов ЭЭГ и распознавании реакции синхронизации/десинхронизации сенсорно-моторного ритма при воображении движения рук. Сигналы ЭЭГ фильтруются в полосе частот от 5 до 30 Гц. В исследовании применяли классификатор паттернов ЭЭГ, основанный на методе Байеса [24, 25]. В качестве показателей точности классификации используются индекс «каппа Коэна» (при идеальном распознавании  $\kappa = 1$ , при случайном распознавании  $\kappa = 0$  [26]) и процент правильных ответов классификатора (более 33 % — распознавание выше случайного, так как пациенты выполняют по инструкции три ментальные задачи). Состав комплекса «ИМК-экзоскелет» приведен на рис. 1.

Во время процедуры на голову пациента надевают шапочку с электродами для регистрации ЭЭГ, под каждый из которых наносят электродный гель. На кисть паретичной руки фиксируется экзоскелет. Применяемый в данном исследовании экзоскелет представляет собой полимерный подвижный каркас для кисти и пальцев руки с роботизированным пневматическим управлением, предназначенный для разгибания пальцев кисти в объеме, не превышающем физиологический. В процессе тренинга пациент сидит за столом перед компьютерным монитором, руки

лежат на подлокотниках кресла или на столе перед ним в удобном положении.

В центре темного экрана монитора находится круг, служащий для фиксации взгляда, вокруг него расположены 3 стрелки для обозначения инструкций изменяющимся цветом. Пациент выполняет одну из трех инструкций: расслабиться, кинестетически представить медленное разгибание пальцев левой или правой кисти. Инструкции на воображение разгибания пальцев правой и левой руки (изменение цвета стрелки справа или слева соответственно) предъявляются в случайном порядке, каждая в течение 10 с. Между инструкциями по воображению движения предъявляется инструкция «расслабиться» (загорается верхняя стрелка) также в течение 10 с. По инструкции «расслабиться» пациент должен спокойно сидеть и смотреть в центр экрана.

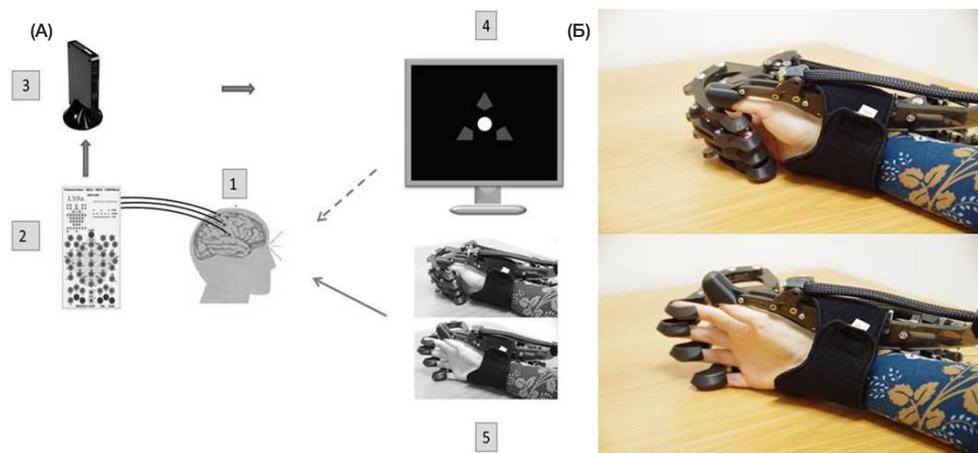
Результаты распознавания выполняемой ментальной задачи пациент получает по зрительной и кинестетической обратной связи: в случае успешного распознавания классификатором задачи, соответствующей предъявляемой инструкции, фиксирующая взор метка в середине экрана принимает зеленый цвет, а экзоскелет разгибает пальцы кисти. При распознавании других задач цвет метки не меняется, экзоскелет не срабатывает.

Один тренинг (одна процедура) содержит до трех вышеописанных сессий, каждая длительностью 10 мин. Между сессиями пациент отдыхает в течение 5 мин.

Во время процедуры имитации используют комплекс ИМК в том же составе и при тех же условиях, что и в основной группе. Пациенты группы контроля выполняют инструкцию «расслабиться, следить за изменением цвета стрелок». Каждое изменение цвета стрелок происходит в случайном порядке и длится 10 с, при этом экзоскелет раскрывает пальцы паретичной кисти при предъявлении соответствующей ей стрелки.

Таким образом, пациент из контрольной группы не воображает движение и не пытается управлять экзоскелетом, а получает процедуру пассивной механотерапии паретичной кисти. ЭЭГ регистрируется для контроля.

Исследователь, производящий клиническую оценку пациентов, не знает в какую группу исследования включен пациент. Подобная информация доступна только исследователям, проводившим процедуры реабилитации с помощью технологии ИМК-экзоскелет или его имитатора.



**Рис. 1.** Комплекс «ИМК-экзоскелет». (А) Блок-схема применяемого комплекса ИМК: 1 — 32 Ag/AgCl-электроды ЭЭГ; 2 — энцефалограф NVX52 («Медицинские Компьютерные Системы», Россия); 3 — компьютер (ОС Windows 7): передача данных в реальном времени, выделение рабочих показателей ЭЭГ, распознавание управляющей команды; 4 — презентационный монитор; 5 — экзоскелет кисти; пунктирная и непрерывная стрелки — визуальная и кинестетическая обратная связь соответственно. (Б) Экзоскелет кисти («Нейроботикс», Россия) с пневматическими приводами разгибания пальцев

До и после курса тренировок пациентам проводят оценку движений и силы в руке с помощью шкал Fugl-Meyer Assessment scale (FM) и Action Research Arm Test (ARAT) [27, 28]. Кроме того, анализируют динамику по отдельным разделам данных шкал. Оценку степени спастичности проводят по шкале MAS.

При анализе результатов также оценивают долю пациентов с улучшением по шкале ARAT на 5 баллов и более и по разделам A–D шкалы FM (двигательная функция верхней конечности) на 7 баллов и более.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью критериев Манна–Уитни (при сравнении независимых выборок), Уилкоксона (при сравнении зависимых выборок), коэффициента корреляции Спирмена, дисперсионного анализа RM-ANOVA и максимально правдоподобного теста хи-квадрат (МП  $\chi^2$ ) на персональном компьютере с применением пакета прикладных программ Statsoft Statistica v. 6.0.

Данные представлены в виде медианы и 25, 75 % квартилей. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для отбора участников исследования был проведен скрининг 232 пациентов. Критериям включения соответствовали 58 пациентов, 11 из них отказались участвовать после первой или второй процедуры. В исследование и текущий анализ были включены 47 пациентов (33 мужчины и 14 женщин), медиана возраста составила 56 (48; 64) лет, медиана давности инсульта — 8 (4; 13) мес., у 35 пациентов характер инсульта был ишемический и у 12 — геморрагический. Все включенные в исследование пациенты были правши и принадлежали к европеоидной расе. Основная группа пациентов, 36 человек, проходили тренировки с технологией ИМК–экзоскелет и 11 пациентов контрольной группы — с имитатором данной технологии. Группы были сопоставимы по возрасту, давности инсульта и степени неврологического дефицита у пациентов. Демографические и основные исходные данные пациентов обеих групп представлены в табл. 1. По возрасту, давности инсульта,

локализации и латерализации очага и степени неврологического дефицита статистически значимых различий между группами не выявлено. Между пациентами из трех клинических центров также не было статистически значимых различий в отношении давности, типа, локализации инсульта и тяжести неврологического дефицита.

Медиана количества пройденных тренировок в основной группе составила 9,5 (8,0; 10,0), в контрольной — 10,0 (6,0; 10,0) сеансов ( $p > 0,05$ ).

В обеих группах наблюдали улучшение двигательной функции руки по шкалам ARAT и FM (разделы, посвященные руке: A–D, H, I). Только в группе ИМК–экзоскелет выявлено улучшение шарового захвата кисти с 0,5 (0,0; 13,0) до 3,0 (0,0; 15,5) балла ( $p = 0,003$ ), щипкового захвата пальцев кисти с 0,5 (0,0; 7,5) до 1,0 (0,0; 12,0) балла ( $p = 0,005$ ), а также крупных движений руки с 2,0 (0,0; 4,5) до 3,0 (1,0; 6,5) балла ( $p < 0,001$ ) по шкале ARAT (табл. 2). Между группами статистически значимых различий по методу RM-ANOVA в улучшении двигательной функции выявлено не было.

В основной группе клинически значимое улучшение двигательной функции руки по шкале ARAT (увеличение на 5 баллов и более) отмечено у 33,3 % пациентов, по шкале FM (увеличение на 7 баллов и более по разделам A–D) — у 30,5 % пациентов. Клинически значимое улучшение двигательной функции руки по обоим шкалам выявлено у 16,7 % пациентов основной группы. При этом наблюдавшаяся положительная динамика отмечена преимущественно за счет восстановления двигательной функции кисти. В контрольной группе доля пациентов с клинически значимым улучшением двигательной функции руки была меньше: 9,1 и 18,2 % по шкалам ARAT и FM соответственно (табл. 2).

Ни в группе ИМК–экзоскелет, ни в контрольной группе восстановление функции руки (по шкалам и подшкалам ARAT и FM) не зависело от давности инсульта и возраста пациента. В каждой из групп выявлена умеренная или средняя корреляция степени восстановления функции руки (и в частности кисти) по шкале ARAT и исходной тяжести неврологического дефицита ( $r = 0,4$ ,  $p < 0,05$ ), однако, в основной группе статистически значимое улучшение

Таблица 1. Демографические и основные исходные данные пациентов обеих групп

Параметр	Основная группа (n = 36)	Контрольная группа (n = 11)
Возраст, лет	56,0 (47,0; 64,0)	58,0 (48,0; 73,0)
Пол, мужчины, n	27 (75,0 %)	6 (54,5 %)
Давность инсульта, мес.	9,0 (5,0; 13,5)	2,0 (1,0; 12,0)
Латерализация очага, n слева справа	19 (52,8 %) 17 (47,2 %)	8 (72,7 %) 3 (27,3 %)
Локализация очага, n корковая подкорковая корково-подкорковая	2 (5,5 %) 19 (52,8 %) 15 (41,7 %)	2 (18,2 %) 8 (72,7 %) 1 (9,1 %)
Реабилитационный период, n ранний (1–6 мес.) поздний (7–12 мес.) резидуальный (более 12 мес.)	14 (38,8 %) 11 (30,6 %) 11 (30,6%)	6 (54,5 %) 2 (18,2 %) 3 (27,3 %)
ARAT, баллы	4,5 (0,0; 33,0)	1,0 (0,0; 22,0)
FM, верхняя конечность (разделы A–D, H, I), баллы	75,5 (61,0; 92,0)	65,0 (61,0; 104,0)
FM, двигательная функция руки (разделы A–D), баллы	27,5 (11,0; 40,5)	12,0 (11,0; 49,0)
MAS, баллы	2,0 (1,0; 3,0)	2,0 (1,0; 2,0)
Количество тренировок в рамках исследования	9,5 (8,0; 10,0)	10,0 (6,0; 10,0)

функции кисти наблюдали как в подгруппе с исходно тяжелым парезом, так и в подгруппе с исходно легким или умеренным парезом (табл. 3).

Три пациента основной группы из второго центра исследования при повторной плановой госпитализации прошли второй курс тренировок с технологией ИМК–экзоскелет с интервалом между курсами 6–9 мес. Каждый курс включал 8–10 тренировок. Как видно из рис. 2, к моменту второй госпитализации двигательная функция руки по шкале ARAT ни у кого из пациентов не ухудшилась. Балл по шкале FM (разделы С–D) у Пациента 1 снизился на момент повторной госпитализации, но все еще значительно превышал исходный показатель. При повторном курсе терапии с включением в реабилитационную программу

тренингов с технологией ИМК–экзоскелет у всех трех пациентов отмечена положительная динамика показателей двигательной функции руки.

Ни у кого из пациентов значимого ухудшения функции руки по ARAT или FM в ходе исследования не выявлено.

В процессе тренировок у 3 пациентов возникала незначительная головная боль: у 2 пациентов из основной группы (у одного из них данный симптом отмечен во время двух тренировок из десяти, у второго — в процессе всех десяти тренировок) и у 1 пациента из контрольной группы (в процессе трех тренировок из десяти).

Большинство пациентов сообщали об утомлении на фоне концентрации внимания примерно после 20–30 мин тренинга. Утомление было более выражено при бессонни-

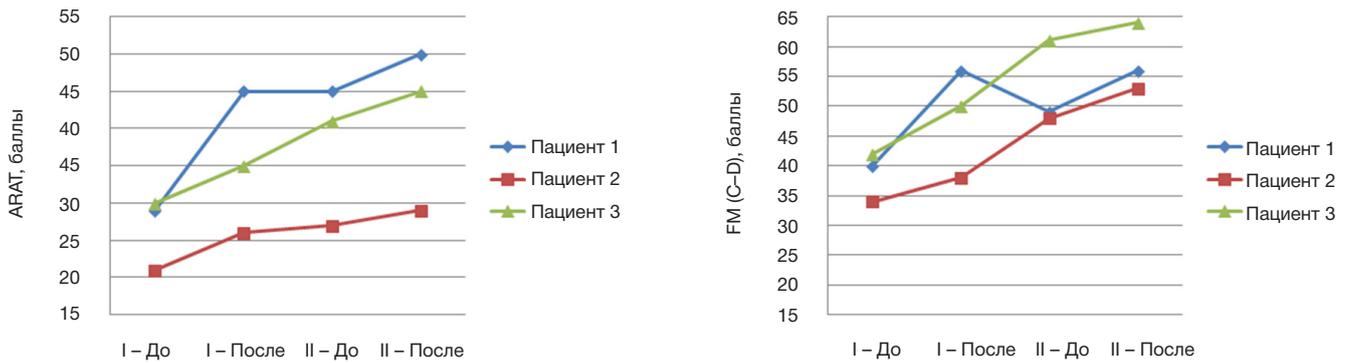
**Таблица 2.** Изменение значений основных клинических показателей шкал ARAT и Fugl-Meyer в каждой из групп до и после исследования, баллы

Показатель	Основная группа (n = 36)		Контрольная группа (n = 11)		Диапазон возможных значений
	до	после	до	после	
<b>Шкала ARAT</b>					
Общий балл	4,5 (0,0; 33,0)	7,0 (1,0; 43,5)	1,0 (0,0; 22,0)	6,0 (0,0; 24,0)	0–57
	<b>&lt; 0,001</b>		<b>0,018</b>		
Шаровой захват	0,5 (0,0; 13,0)	3,0 (0,0; 15,5)	0,0 (0,0; 5,0)	1,0 (0,0; 6,0)	0–18
	<b>0,003</b>		<b>0,423</b>		
Цилиндрический захват	0,5 (0,0; 8,0)	1,5 (0,0; 10,0)	0,0 (0,0; 6,0)	1,0 (0,0; 7,0)	0–12
	<b>&lt; 0,001</b>		<b>0,043</b>		
Щипковый захват	0,5 (0,0; 7,5)	1,0 (0,0; 12,0)	0,0 (0,0; 4,0)	0,0 (0,0; 5,0)	0–18
	<b>0,005</b>		<b>0,423</b>		
Кисть в целом (шаровой, цилиндрический, щипковый захваты)	3,0 (0,0; 29,5)	5,0 (0,0; 37,0)	0,0 (0,0; 16,0)	3,0 (0,0; 18,0)	0–48
	<b>&lt; 0,001</b>		<b>0,028</b>		
Крупные движения руки	2,0 (0,0; 4,5)	3,0 (1,0; 6,5)	1,0 (0,0; 6,0)	3,0 (0,0; 6,0)	0–9
	<b>&lt; 0,001</b>		<b>0,109</b>		
Число случаев улучшения по ARAT на 5 баллов и более, % (n)	33,3 (12)		9,1 (1)		0–100
<b>Шкала Fugl-Meyer</b>					
Верхняя конечность (разделы А–D, H, I)	75,5 (61,0; 92,0)	84,5 (63,0; 103,0)	65,0 (61,0; 104,0)	72 (65,0; 108,0)	0–126
	<b>&lt; 0,001</b>		<b>0,004</b>		
Двигательная функция верхней конечности (разделы А–D)	27,5 (11,0; 40,5)	33,5 (15,5; 48,0)	12,0 (11,0; 49,0)	17,0 (13,0; 54,0)	0–66
	<b>&lt; 0,001</b>		<b>0,005</b>		
Активные движения в проксимальном отделе руки (раздел А)	21,0 (10,5; 26,5)	24,5 (13,5; 32,0)	11,0 (10,0; 27,0)	15,0 (11,0; 28,0)	0–36
	<b>&lt; 0,001</b>		<b>0,008</b>		
Активные движения кисти (разделы В–С)	6,0 (1,0; 14,5)	8,0 (2,0; 18,0)	2,0 (1,0; 19,0)	3,0 (2,0; 19,0)	0–24
	<b>&lt; 0,001</b>		<b>0,049</b>		
Число случаев улучшения двигательной функции руки (разделы А–D) на 7 баллов и более, % (n)	30,5 (11)		18,2 (2)		0–100

**Примечание:** значения p при сравнении соответствующих показателей до и после исследования в обеих группах приведены под каждой парой показателей; достоверные различия выделены жирным шрифтом.

**Таблица 3.** Улучшение двигательной функции кисти у пациентов основной группы в зависимости от исходной тяжести пареза

Исходная выраженность пареза по разделам В–С шкалы FM	n	Шкала FM, баллы		p
		до исследования	после исследования	
Плегия или грубый парез 0–12 баллов	24	2,0 (1,0; 6,0)	3,0 (1,0; 8,0)	0,004
(из них) 0–7 баллов	20	1,0 (1,0; 2,5)	2,0 (1,0; 6,0)	0,003
Умеренный или легкий парез 13–24 балла	12	17,5 (14,5; 21,5)	22,0 (18,0; 23,5)	0,005



**Рис. 2.** Динамика показателей двигательной функции руки у пациентов, прошедших два курса тренировок. I и II — номер госпитализации (курса тренировок), «До» и «После» — показатели до и после прохождения каждого курса тренировок. Давность инсульта при первичной и повторной госпитализации: Пациент 1 — 21 и 30 мес., Пациент 2 — 9 и 14 мес., Пациент 3 — 6 и 12 мес. соответственно.

це накануне тренинга (2 пациента основной группы), склонности к депрессии (2 пациента основной группы), большой нагрузке от других процедур, полученных пациентом до начала тренинга (1 пациент основной группы), а также при исходно общей слабости пациента. Большинство пациентов считали, что чувство утомления свидетельствует об эффективности тренировки и относились к данному явлению положительно.

При жалобе на головную боль или усталость тренинг в данный день прекращали, а у одного пациента из основной группы при появлении усталости было увеличено время между отдельными сессиями в рамках одного тренинга до 2–3 мин (по разрешению врача и желанию самого пациента). Из-за усталости и плохого общего состояния у одного пациента основной группы увеличивали интервал между процедурами до 2–3 дней.

У одного пациента основной группы после третьего тренинга при прохождении повторного курса терапии поднялось артериальное давление до 200/100 мм рт. ст., что удалось купировать медикаментозно.

В целом ни один из пациентов не выбыл из исследования из-за развития нежелательных явлений.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Предварительные результаты проводимого в России многоцентрового слепого контролируемого исследования iMove показали, что комплексная реабилитация с применением технологии ИМК–экзоскелет в течение 2–3 нед. увеличивает долю пациентов с клинически значимым восстановлением двигательной функции руки. При этом положительная динамика происходит преимущественно за счет восстановления функции кисти, воображение движения которой тренировали. Показано также, что только в группе ИМК–экзоскелет выявлено улучшение шарового и щипкового захватов кисти. Важно отметить, что для шарового захвата крупного предмета (например, специальных объектов для оценки по шкале ARAT) необходима сохранность движения раскрытия кисти. В процессе тренировок с технологией ИМК–экзоскелет пациенты воображали именно раскрытие кисти, а обратная связь при этом предъяснялась кинестетически с помощью экзоскелета, реализующего данное движение. В степени восстановления двигательной функции между основной и контрольной группами не было выявлено статистически значимых различий, что можно объяснить недостаточной длительностью тренировок и периода наблюдения [14].

Результаты нашего исследования согласуются с данными других контролируемых исследований в данной области. В исследовании Ramos-Murguialday 16 пациентов с постинсультным гемипарезом проходили тренинги с технологией ИМК–ортез, и еще 16 — составили группу контроля, у которых ортез во время тренировок не соединялся с ИМК и открывался случайным образом. Тренинги в обеих группах проходили в течение 4 нед., кроме выходных дней (в среднем пациенты прошли примерно по 18 тренингов). В результате в группе ИМК улучшение двигательной функции по шкале FM было в среднем на 3,41 балла выше, чем в группе контроля ( $p = 0,018$ ) [15].

В исследовании Ang с участием 26 пациентов сравнивали эффект лечения групп пациентов, получавших тренинги ИМК–Manus и получавших только робототерапию с MIT-Manus. При этом в группе без ИМК интенсивность тренировок была намного выше по сравнению с основной группой (1040 против 136 движений за сеанс). По окончании 4-недельного курса терапии ее эффективность была сопоставима в обеих группах, однако через 12 нед. от начала наблюдения дальнейшее улучшение двигательных функций в руке отмечено у 63,6 % пациентов группы ИМК–Manus и лишь у 35,7 % — из контрольной [14].

В другом исследовании с участием 21 пациента и проведенном той же исследовательской группой [13] сравнивали три подхода: ИМК с роботизированным устройством для раскрытия кисти Haptic Knob (группа ИМК–НК), Haptic Knob без управления с помощью ИМК и стандартная реабилитационная программа. Только в группе ИМК–НК достигли значимо большего улучшения функции руки по сравнению со стандартной терапией, что было отмечено на 3, 12 и 24-й неделях наблюдения (на 2,14, 1,82, и 2,28 балла по разделам C–D шкалы FM соответственно,  $p < 0,05$ ).

Следует отметить, что, в отличие от нашего исследования, в указанных выше работах пациентов предварительно проверяли на способность управлять ИМК с помощью воображения движения. Второе важное отличие этих работ — намного большая интенсивность тренировок: 18 ч за весь курс [13, 14] по сравнению с нашим исследованием, где пациенты в среднем получали 5 ч тренировок за весь курс. Однако увеличить интенсивность тренировок в рамках исследования не представлялось возможным ввиду особенностей функционирования центров и ограниченных сроков госпитализации.

Одной из особенностей методики данного исследования было применение нескольких шкал для оценки восстановления двигательной функции руки. Если шкала FM

является более универсальной и подробной [13, 27], то функциональная шкала ARAT позволяет оценить разные виды хватов кисти, используемые в повседневной жизни [28].

Важное отличие от других исследований в данной области также заключается в применении экзоскелета в качестве внешнего ассистирующего прибора. Хотя нет данных, свидетельствующих о большей эффективности именно такого устройства при тренингах с ИМК, но реализуемое им движение кинематически более близко к физиологическому для кисти и каждого пальца. В основном это достигается благодаря применению гибких «пневмомышц», «экзосуставов» и фиксаторов пальцев, разработанных с учетом анатомического строения кисти человека, что улучшает эргономические характеристики и не приводит к быстрому утомлению испытуемого во время исследований, а также исключает вероятность травм (при надлежащем соблюдении мер безопасности). С другой стороны, важно подчеркнуть отсутствие возможности реализации комплексного, функционально значимого движения. Экзоскелет способствует только разгибанию пальцев кисти человека, последующее же возвращение пальцев в исходное положение при этом осуществляется пассивно под действием пружины. Такой экзоскелет можно применять только в качестве стимулятора поверхностной и проприоцептивной афферентации от пальцев и кисти руки, а также пассивного механотерапевтического комплекса с одной степенью свободы для дистальных отделов рук. Вторым недостатком данного экзоскелета является шум от пневмонасоса, который может мешать оператору ИМК сосредоточиться на воображении движения.

В нашем исследовании было показано, что ни в группе ИМК–экзоскелет, ни в контрольной группе восстановления функции руки (по шкалам и подшкалам ARAT и FM) не зависело от давности инсульта и возраста пациента, поэтому данная методика может быть назначена пациентам в разных реабилитационных периодах и способствовать при этом лучшему восстановлению, что также согласуется с работами других авторов [13, 14, 29].

Несмотря на выявленную умеренную или среднюю корреляцию степени восстановления функции кисти по шкале ARAT с исходной тяжестью неврологического дефицита, в основной группе улучшение функции кисти наблюдалось как в подгруппе с исходно тяжелым, так и в подгруппе с исходно легким или умеренным парезом. Ранее было по-

казано улучшение двигательной функции кисти в результате тренировок ИМК–экзоскелет в случае тяжелого пареза руки [19]. Поэтому степень тяжести двигательного дефицита не является критерием выбора пациентов для назначения тренировок ИМК–экзоскелет. Более того, при плегии и грубом парезе подобные тренировки являются единственным методом с активной двигательной парадигмой.

Особенность настоящего исследования — участие в нем пациентов из трех клинических центров со статистически незначимыми различиями пола пациентов, давности, типа, локализации и латерализации инсульта. Тестирование пациентов специалистами из разных клинических центров и слепой дизайн исследования уменьшали влияние субъективного фактора [27] в оценках выполнения пациентами клинических тестов.

У пациентов, прошедших 2 курса тренировок с интервалом 6–9 мес., в процессе прохождения второго курса отмечено дальнейшее улучшение двигательной функции. Необходимо изучить особенности восстановления двигательной функции на фоне нескольких курсов с перерывами между ними. В рамках данного исследования для пациентов с плановыми повторными госпитализациями такое наблюдение будет продолжено.

Наиболее частым нежелательным явлением было утомление, однако ни один из пациентов не выбыл из исследования из-за возникновения серьезного нежелательного явления, и в целом технология является безопасной. Поскольку более выраженной усталости в процессе тренинга предшествовали бессонница, большая физическая нагрузка от предыдущих процедур, склонность к депрессии, а также общая слабость, вероятность возникновения данного нежелательного явления можно снизить путем подбора оптимальной последовательности реабилитационных процедур и опроса пациента перед каждым тренингом о его самочувствии и качестве сна.

## ВЫВОДЫ

Несмотря на отсутствие скрининга пациентов на предмет их способности управлять интерфейсом мозг–компьютер и меньшую интенсивность тренировок с применением подобной технологии, предварительные данные проводимого исследования свидетельствуют о ее эффективности в отношении доли пациентов с клинически значимым улучшением по шкалам ARAT и FM.

## Литература

- Langhorne P, Coupar F, Pollock A. Motor recovery after stroke: a systematic review. *Lancet Neurol.* 2009 Aug; 8 (8): 741–54.
- Pollock A, Farmer SE, Brady MC, Langhorne P, Mead GE, Mehrholz J, et al. Interventions for improving upper limb function after stroke. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 Nov 12; 11: CD010820. doi: 10.1002/14651858.CD010820.pub2.
- Shih JJ, Krusienski DJ, Wolpaw JR. Brain–computer interfaces in medicine. *Mayo Clin Proc.* 2012 Mar; 87 (3): 268–79.
- Mokienko OA, Chervyakov AV, Kulikova SN, Bobrov PD, Chernikova LA, Frolov AA, et al. Increased motor cortex excitability during motor imagery in brain–computer interface trained subjects. *Front Comput Neurosci.* 2013 Nov 22; 7: 168.
- Frolov AA, Gusek D, Bobrov PD, Mokienko OA, Chernikova LA, Kononov RN. Localization of brain electrical activity sources and hemodynamic activity foci during motor imagery. *Hum Physiol.* 2014 May–Jun; 40 (3): 273–83.
- Mokienko OA, Chernikova LA, Frolov AA, Bobrov PD. Motor imagery and its practical application. *Neurosci Behav Physiol.* 2014 Jun; 44 (5): 483–9.
- Soekadar SR, Birbaumer N, Slutzky MW, Cohen LG. Brain–machine interfaces in neurorehabilitation of stroke. *Neurobiol Dis.* 2015 Nov; 83: 172–9.
- Grosse-Wentrup M, Mattia D, Oweiss K. Using brain–computer interfaces to induce neural plasticity and restore function. *J Neural Eng.* 2011 Apr; 8 (2): 025004. doi: 10.1088/1741-2560/8/2/025004.
- Steenbergen B, Crajé C, Nilsen DM, Gordon AM. Motor imagery training in hemiplegic cerebral palsy: a potentially useful therapeutic tool for rehabilitation. *Dev Med Child Neurol.* 2009 Sep; 51 (9): 690–6.
- Nicolas-Alonso LF, Gomez-Gil J. Brain computer interfaces, a review. *Sensors (Basel).* 2012; 12 (2): 1211–79.
- Vidal JJ. Toward direct brain–computer communication. *Annu Rev Biophys Bioeng.* 1973; 2: 157–80.
- Pfurtscheller G, Aranibar A. Evaluation of event-related desynchronization (ERD) preceding and following voluntary self-paced movement. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1979 Feb; 46 (2): 138–46.

13. Ang KK, Guan C, Phua KS, Wang C, Zhou L, Tang KY, et al. Brain-computer interface-based robotic end effector system for wrist and hand rehabilitation: results of a three-armed randomized controlled trial for chronic stroke. *Front Neuroeng.* 2014 Jul 29; 7: 30.
14. Ang KK, Chua KS, Phua KS, Wang C, Chin ZY, Kuah CW, et al. A Randomized Controlled Trial of EEG-Based Motor Imagery Brain-Computer Interface Robotic Rehabilitation for Stroke. *Clin EEG Neurosci.* 2015 Oct; 46 (4): 310–20.
15. Ramos-Murguialday A, Broetz D, Rea M, Läer L, Yilmaz O, Brasil FL, et al. Brain-machine interface in chronic stroke rehabilitation: a controlled study. *Ann Neurol.* 2013 Jul; 74 (1): 100–8.
16. Котов С. В., Турбина Л. Г., Бобров П. Д., Фролов А. А., Павлова О. Г., Курганская М. Е. и др. Реабилитация больных, перенесших инсульт, с помощью биоинженерного комплекса «интерфейс мозг-компьютер + экзоскелет». *Журн неврол. и психиатр.* 2014; 114 (12-2): 66–72.
17. Котов С. В., Турбина Л. Г., Бобров П. Д., Фролов А. А., Павлова О. Г., Курганская М. Е. и др. Применение комплекса «интерфейс «мозг-компьютер» и экзоскелет» и техники воображения движения для реабилитации после инсульта. *Альм. клин. мед.* 2015; (39): 15–21.
18. Mokienko OA, Lyukmanov RKh, Chernikova LA, Suponeva NA, Piradov MA, Frolov AA. Brain-computer interface: The first experience of clinical use in Russia. *Hum Physiol.* 2016 Jan; 42 (1): 24–31.
19. Biryukova EV, Pavlova OG, Kurganskaya ME, Bobrov PD, Turbina LG, Frolov AA, et al. Recovery of the motor function of the arm with the aid of a hand exoskeleton controlled by a brain-computer interface in a patient with an extensive brain lesion. *Hum Physiol.* 2016; 42 (1): 13–23.
20. Compston A. Aids to the investigation of peripheral nerve injuries. Medical Research Council: Nerve Injuries Research Committee. His Majesty's Stationery Office: 1942; pp. 48 (iii) and 74 figures and 7 diagrams; with aids to the examination of the peripheral nervous system. By Michael O'Brien for the Guarantors of Brain. Saunders Elsevier: 2010; pp. [8] 64 and 94 Figures. *Brain.* 2010 Oct; 133 (10): 2838–44.
21. Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia.* 1971 Mar; 9 (1): 97–113.
22. Bocti C, Legault V, Leblanc N, Berger L, Nasreddine Z, Beaulieu-Boire I, et al. Vascular cognitive impairment: most useful subtests of the Montreal Cognitive Assessment in minor stroke and transient ischemic attack. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2013; 36 (3–4): 154–62.
23. Bohannon RW, Smith MB. Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *Phys Ther.* 1987 Feb; 67 (2): 206–7.
24. Frolov A, Húsek D, Bobrov P. Comparison of four classification methods for brain-computer interface. *Neural Network World.* 2011; 21 (2): 101–5.
25. Бобров П. Д., Коршаков А. В., Роцин В. Ю., Фролов А. А. Байесовский подход к реализации интерфейса мозг-компьютер, основанного на представлении движений. *Журн. высш. нервн. деят.* 2012; 62 (1): 89–99.
26. Kohavi R, Provost F. Glossary of terms. Special Issue of Applications of Machine Learning and the Knowledge Discovery Process. *Mach Learn.* 1998; 30 (2–3): 271–4.
27. Sanford J, Moreland J, Swanson LR, Stratford PW, Gowland C. Reliability of the Fugl-Meyer assessment for testing motor performance in patients following stroke. *Phys Ther.* 1993 Jul; 73 (7): 447–54.
28. Doussoulin SA, Rivas SR, Campos SV. [Validation of «Action Research Arm Test» (ARAT) in Chilean patients with a paretic upper limb after a stroke]. *Rev Med Chil.* 2012 Jan; 140 (1): 59–65. Spanish.
29. Buch ER, Modir Shanechi A, Fourkas AD, Weber C, Birbaumer N, Cohen LG. Parietofrontal integrity determines neural modulation associated with grasping imagery after stroke. *Brain.* 2012 Feb; 135 (Pt 2): 596–614.

## References

1. Langhorne P, Coupar F, Pollock A. Motor recovery after stroke: a systematic review. *Lancet Neurol.* 2009 Aug; 8 (8): 741–54.
2. Pollock A, Farmer SE, Brady MC, Langhorne P, Mead GE, Mehrholz J, et al. Interventions for improving upper limb function after stroke. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 Nov 12; 11: CD010820. doi: 10.1002/14651858.CD010820.pub2.
3. Shih JJ, Krusienski DJ, Wolpaw JR. Brain-computer interfaces in medicine. *Mayo Clin Proc.* 2012 Mar; 87 (3): 268–79.
4. Mokienko OA, Chervyakov AV, Kulikova SN, Bobrov PD, Chernikova LA, Frolov AA, et al. Increased motor cortex excitability during motor imagery in brain-computer interface trained subjects. *Front Comput Neurosci.* 2013 Nov 22; 7: 168.
5. Frolov AA, Gusek D, Bobrov PD, Mokienko OA, Chernikova LA, Konovalov RN. Localization of brain electrical activity sources and hemodynamic activity foci during motor imagery. *Hum Physiol.* 2014 May–Jun; 40 (3): 273–83.
6. Mokienko OA, Chernikova LA, Frolov AA, Bobrov PD. Motor imagery and its practical application. *Neurosci Behav Physiol.* 2014 Jun; 44 (5): 483–9.
7. Soekadar SR, Birbaumer N, Slutzky MW, Cohen LG. Brain-machine interfaces in neurorehabilitation of stroke. *Neurobiol Dis.* 2015 Nov; 83: 172–9.
8. Grosse-Wentrup M, Mattia D, Oweiss K. Using brain-computer interfaces to induce neural plasticity and restore function. *J Neural Eng.* 2011 Apr; 8 (2): 025004. doi: 10.1088/1741-2560/8/2/025004.
9. Steenbergen B, Crajé C, Nilsen DM, Gordon AM. Motor imagery training in hemiplegic cerebral palsy: a potentially useful therapeutic tool for rehabilitation. *Dev Med Child Neurol.* 2009 Sep; 51 (9): 690–6.
10. Nicolas-Alonso LF, Gomez-Gil J. Brain computer interfaces, a review. *Sensors (Basel).* 2012; 12 (2): 1211–79.
11. Vidal JJ. Toward direct brain-computer communication. *Annu Rev Biophys Bioeng.* 1973; 2: 157–80.
12. Pfurtscheller G, Aranibar A. Evaluation of event-related desynchronization (ERD) preceding and following voluntary self-paced movement. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1979 Feb; 46 (2): 138–46.
13. Ang KK, Guan C, Phua KS, Wang C, Zhou L, Tang KY, et al. Brain-computer interface-based robotic end effector system for wrist and hand rehabilitation: results of a three-armed randomized controlled trial for chronic stroke. *Front Neuroeng.* 2014 Jul 29; 7: 30.
14. Ang KK, Chua KS, Phua KS, Wang C, Chin ZY, Kuah CW, et al. A Randomized Controlled Trial of EEG-Based Motor Imagery Brain-Computer Interface Robotic Rehabilitation for Stroke. *Clin EEG Neurosci.* 2015 Oct; 46 (4): 310–20.
15. Ramos-Murguialday A, Broetz D, Rea M, Läer L, Yilmaz O, Brasil FL, et al. Brain-machine interface in chronic stroke rehabilitation: a controlled study. *Ann Neurol.* 2013 Jul; 74 (1): 100–8.
16. Kotov SV, Turbina LG, Bobrov PD, Frolov AA, Pavlova OG, Kurganskaya ME, et al. Reabilitatsiya bol'nykh, perenesshikh insul'ta, s pomoshch'yu bioinzhenernogo kompleksa «interfeis mozg-komp'yuter + ekzoskelet». *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2014; 114 (12-2): 66–72. Russian.
17. Kotov SV, Turbina LG, Bobrov PD, Frolov AA, Pavlova OG, Kurganskaya ME, et al. Primenenie kompleksa «interfeis "mozg-komp'yuter" i ekzoskelet» i tekhniki voobrazheniya dvizheniya dlya reabilitatsii posle insul'ta. *Almanac of Clinical Medicine.* 2015;

- (39): 15–21. Russian.
18. Mokienko OA, Lyukmanov RKh, Chernikova LA, Suponeva NA, Piradov MA, Frolov AA. Brain–computer interface: The first experience of clinical use in Russia. *Hum Physiol.* 2016 Jan; 42 (1): 24–31.
  19. Biryukova EV, Pavlova OG, Kurganskaya ME, Bobrov PD, Turbina LG, Frolov AA, et al. Recovery of the motor function of the arm with the aid of a hand exoskeleton controlled by a brain–computer interface in a patient with an extensive brain lesion. *Hum Physiol.* 2016; 42 (1): 13–23.
  20. Compston A. Aids to the investigation of peripheral nerve injuries. Medical Research Council: Nerve Injuries Research Committee. His Majesty's Stationery Office: 1942; pp. 48 (iii) and 74 figures and 7 diagrams; with aids to the examination of the peripheral nervous system. By Michael O'Brien for the Guarantors of Brain. Saunders Elsevier: 2010; pp. [8] 64 and 94 Figures. *Brain.* 2010 Oct; 133 (10): 2838–44.
  21. Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia.* 1971 Mar; 9 (1): 97–113.
  22. Bocti C, Legault V, Leblanc N, Berger L, Nasreddine Z, Beaulieu-Boire I, et al. Vascular cognitive impairment: most useful subtests of the Montreal Cognitive Assessment in minor stroke and transient ischemic attack. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2013; 36 (3–4): 154–62.
  23. Bohannon RW, Smith MB. Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *Phys Ther.* 1987 Feb; 67 (2): 206–7.
  24. Frolov A, Húsek D, Bobrov P. Comparison of four classification methods for brain–computer interface. *Neural Network World.* 2011; 21 (2): 101–5.
  25. Bobrov PD, Korshakov AV, Roshchin V, Frolov AA. Baiesovskii podkhod k realizatsii interfeisa mozg–komp'yuter, osnovannogo na predstavlenii dvizhenii. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova.* 2012; 62 (1): 89–99. Russian.
  26. Kohavi R, Provost F. Glossary of terms. Special Issue of Applications of Machine Learning and the Knowledge Discovery Process. *Mach Learn.* 1998; 30 (2–3): 271–4.
  27. Sanford J, Moreland J, Swanson LR, Stratford PW, Gowland C. Reliability of the Fugl-Meyer assessment for testing motor performance in patients following stroke. *Phys Ther.* 1993 Jul; 73 (7): 447–54.
  28. Doussoulin SA, Rivas SR, Campos SV. [Validation of «Action Research Arm Test» (ARAT) in Chilean patients with a paretic upper limb after a stroke]. *Rev Med Chil.* 2012 Jan; 140 (1): 59–65. Spanish.
  29. Buch ER, Modir Shanechi A, Fourkas AD, Weber C, Birbaumer N, Cohen LG. Parietofrontal integrity determines neural modulation associated with grasping imagery after stroke. *Brain.* 2012 Feb; 135 (Pt 2): 596–614.

## ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ УПРАВЛЕНИЯ ОТДЕЛЬНЫМИ ПАЛЬЦАМИ ФАНТОМА КИСТИ РУКИ ЧЕЛОВЕКА В КОНТУРЕ ИНТЕРФЕЙСА МОЗГ–КОМПЬЮТЕР НА ВОЛНЕ P300

А. Я. Каплан<sup>1,2✉</sup>, Д. Д. Жигульская<sup>1</sup>, Д. А. Кирьянов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Лаборатория нейрофизиологии и нейрокомпьютерных интерфейсов, биологический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва

<sup>2</sup> Лаборатория разработки мозго-машинных интерфейсов и прикладной нейроинженерии, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород

В исследовании проверяли предположение, что в контуре предложенного комплекса интерфейса мозг–компьютер на основе волны P300 (ИМК–P300) и антропоморфного фантома кисти руки человек сможет управлять сгибанием целевого пальца фантома, произвольно фокусируя свое внимание на расположенном на этом пальце световом маркере. Поскольку каждое правильное срабатывание пальцев фантома будет свидетельствовать о достаточной выраженности направленных на это действие мысленных усилий, открывается перспектива создания на этой основе идеомоторного тренажера мелких движений кисти. В качестве испытуемых-добровольцев были задействованы 21 человек обоих полов в возрасте 18–25 лет. Было показано, что испытуемые действительно уже в первый экспериментальный день приобретали навык управления пальцами фантома руки в контуре ИМК–P300 с надежностью не менее 69 % успешных попыток. При этом основные ошибки управления были связаны с недостаточной концентрацией внимания на сигналах светового маркера целевых пальцев фантома. Сделано предположение, что разработанный комплекс «ИМК–P300 — Фантом кисти» может послужить основой для создания тренажера мелкой моторики кисти.

**Ключевые слова:** интерфейс мозг–компьютер, ИМК, электроэнцефалограмма, нейрореабилитация, инсульт, вызванные потенциалы, P300

**Финансирование:** работа выполнена при частичной поддержке Фонда «Сколково», грант № 1110034, и РФФ, грант № 15-19-20053.

✉ **Для корреспонденции:** Александр Яковлевич Каплан  
117234, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 12; akaplan@mail.ru

Статья поступила: 11.04.2016 Статья принята к печати: 15.04.2016

## STUDYING THE ABILITY TO CONTROL HUMAN PHANTOM FINGERS IN P300 BRAIN-COMPUTER INTERFACE

Kaplan AY<sup>1,2✉</sup>, Zhigulskaia DD<sup>1</sup>, Kirjanov DA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory for Neurophysiology and Neuro-Computer Interfaces, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Laboratory for Brain-Machine Interfaces and Applied Neuroengineering, Lobachevsky National Research State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia

In this work we have tested the assumption that an individual can control a target finger of a phantom by voluntarily focusing his attention on the luminous marker located on that finger in the complex of a P300 wave-based brain-computer interface (P300 BCI) and an anthropomorphic phantom. Because each correct movement of phantom fingers indicates a sufficient mental effort aimed at this action, creating a new ideomotor training simulator of smaller movements of the hand becomes possible. Our study included 21 volunteer subjects of both sexes aged 18–25. It was shown that with P300 BCI complex the subjects learned to control phantom fingers on the first day of the experiment, the percentage of successful attempts being no less than 69 %. Failures were mainly related to the insufficient attention focus on luminous markers on the target phantom fingers. We hypothesize that P300 BCI — Hand Phantom complex can be a basis for developing a fine motor skills simulator.

**Keywords:** brain-computer interface, BCI, electroencephalogram, neurorehabilitation, stroke, evoked potentials, P300

**Funding:** this work was partially supported by the Skolkovo Foundation, grant no. 1110034, and the Russian Science Foundation, grant no. 15-19-20053.

✉ **Correspondence should be addressed:** Alexandr Kaplan  
ul. Leninskie gory, d. 1, str. 12, Moscow, Russia, 117234; akaplan@mail.ru

Received: 11.04.2016 Accepted: 15.04.2016

Включение элементов идеомоторной тренировки (mental practice) в планы восстановления моторных функций после инсульта и нейротравм становится одним из трендов современной нейрореабилитации [1–4]. В своей основе этот подход восходит к идеям Н. А. Бернштейна о том, что истинный ответ на задачи окружающей среды — не столь-

ко выполнение моторного акта, сколько построение ментального плана его реализации [5]. В значительной мере именно этот центральный интеграционный процесс лежит в основе запуска пластических перестроек в нервной ткани, ведущих к воссозданию нейронных пулов управления движениями [6, 7]. Мысленное представление движения,

иницирующее реконструкцию его плана в нейронных сетях, может оказаться не менее действенным в процессах восстановления нарушенной двигательной координации, чем физическое выполнение самого движения [1, 3, 4]. Действительно, в исследованиях с использованием транскраниальной магнитной стимуляции для тестирования корковой возбудимости показана активация корковых структур в области моторного представительства на фоне мысленного представления движения [8, 9].

Однако, несмотря на кажущуюся легкость мысленного воспроизведения движения, реальная эффективность этого процесса в отношении запуска активационных перестроек в корковых структурах зависит от интенсивности, стабильности и направленности, связанных с этим мысленных усилий [10, 11]. Между тем без обратной связи для человека о характеристиках процесса его умственного представления движений, эти усилия при повторении быстро ослабевают, моторные образы тускнеют, а вся процедура идеомоторного тренинга постепенно теряет интерес для пациента. Технологии интерфейсов мозг–компьютер (ИМК), которые на основе регистрации в ЭЭГ депрессии  $\mu$ -ритмов позволяют детектировать мысленные представления движений и трансформировать эти события в команды для управления объектами виртуальной или физической реальности, очевидно позволяют сформировать искомый контур обратной связи [2, 9, 10, 12]. Таким образом, мысленные усилия оператора в виде представления движений могут транслироваться через ИМК в наблюдаемые им действия экранных или физических объектов, что при соответствующей мотивации позволяет выработать навык интенсивного и устойчивого представления движений. Эксплуатация этого навыка в тренировочных сессиях является залогом максимально эффективного запуска пластических перестроек в соответствующих структурах мозга [1, 9, 12].

Узким местом этого подхода является крайне слабая дифференцированность мысленных представлений движения в отношении последующего их детектирования с помощью ИМК. По сути дела, посредством ИМК на основе моторного представления надежно (т. е. с вероятностью более 0,6–0,7) детектируются всего 2–3 образа движения, как правило, — движения левой или правой рукой и ногами [10, 12]. Этого далеко недостаточно при необходимости создания многих каналов обратной связи для мысленной тренировки мелкой моторики, наиболее трудно поддающейся восстановлению, например, движений отдельными пальцами кисти руки.

В то же время существует технология ИМК, основанная на надежном детектировании посредством ЭЭГ фокусов внимания человека к внешним экранным символам с созданием на этой основе библиотеки не менее чем из 36 команд [13]. Детектирование фокусов внимания в этой технологии производится по реакциям в ЭЭГ на быстрые подсветки внешних объектов, например экранных символов, с выделением реакции на целевой стимул по специфическим признакам этих реакций, в частности, по волне P300 [1, 14, 15]. Однако в силу необходимости применения стимульно-символьной среды ИМК-P300, казалось бы, имеет перспективу применения в реабилитационной медицине только как коммуникатор, например, для набора текстов пациентами с тяжелыми нарушениями движений и речи или для активации кнопок пультов управления [16].

В настоящей работе проверяется гипотеза о том, что ИМК-P300 можно использовать по новому назначению — для создания тренажера мелкой моторики, напри-

мер пальцев кисти руки, требующего многоканальной обратной связи. В качестве исполнительного устройства для подобного тренажера предложено использовать антропоморфный фантом кисти руки с подвижными пальцами. Можно предположить, что в контуре предлагаемого в настоящей работе комплекса «ИМК-P300 — Фантом кисти» человек сможет управлять сгибанием пальцев фантома, произвольно фокусируя на них свое внимание. Запуск действия мысленно выбранного таким образом пальца фантома будет свидетельствовать о достаточной напряженности мысленных усилий для концентрации внимания на этом процессе.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 21 испытуемый-доброволец (6 мужчин, 15 женщин; 18–25 лет) с ведущей правой рукой и с нормальным или скорректированным до 100 % зрением. Все испытуемые подписали Информированное согласие на участие в исследовании, одобренном Комиссией по биоэтике МГУ им. М. В. Ломоносова. Испытуемых размещали в удобном кресле с расположением рук на подлокотниках. Над правой рукой испытуемого, закрытой непрозрачной тканью, располагали антропоморфную фантомную кисть с подвижными пальцами, соединенными посредством гибких тросиков с сервоприводами. На последних фалангах каждого пальца фантома были закреплены световые маркеры в виде белых светодиодов яркостью 5 кд/м<sup>2</sup>, включение или выключение которых служило зрительными стимулами для получения в ЭЭГ потенциалов, связанных с событием (ПСС).

Электроэнцефалограмму регистрировали монополярно с помощью 8 электродов в отведениях Cz, Pz, PO3, PO4, PO7, PO8, O1, O2, с объединенным ушным референтным электродом и с электродом Ground в позиции Fpz. В качестве регистратора биопотенциалов использовали электроэнцефалограф NVX52 («МКС», РФ) со следующими установками: частота выборки отсчетов 500 Гц, полоса пропускания 0,1–30 Гц (фильтр Баттерворта 2-го порядка), режекторный фильтр — 50 Гц.

Для выделения ПСС на целевые стимулы, т. е. на подсветки того пальца фантома, к которому в конкретный момент обращалось внимание испытуемого, использовали линейный классификатор Фишера, основанный на методе линейного дискриминантного анализа Фишера (LDA), выходное значение которого при превышении определенного порога преобразовывалось в команду для сгибания соответствующего пальца фантома. Анализ ЭЭГ классификатором проводился в окнах длительностью 10 мс, на которые был разбит интервал анализа от 0 до 800 мс относительно предъявления стимула. Команды для включения стимулов и сервомоторов были реализованы на фантоме с помощью двух программируемых микроЭВМ Freeduino Nano v5 ATmega328 (РФ). Обе микроЭВМ подключались к компьютеру через USB-порты. Фантом также был подключен к усилителю NVX52, с помощью которого регистрировали ЭЭГ, что обеспечивало синхронизированную запись ПСС, их обработку классификатором и генерацию команд.

Экспериментальная сессия представляла собой рандомизированную последовательность предъявления десяти подсветок каждого пальца фантома, необходимую для осуществления одной команды, то есть для сгибания одного пальца фантома, на подсветки которого обращали внимание испытуемого. Каждая команда определялась

предварительным указанием для испытуемого, какой палец фантома он должен выбрать. Параметрами включения светодиодов были длительность 50 мс и межстимульный интервал 150 мс. Каждому испытуемому с небольшими перерывами предъявляли 20 экспериментальных сессий, по результатам которых вычисляли показатели эффективности его работы в контуре ИМК-Р300 с фантомом кисти.

Непосредственно перед экспериментальной сессией производили обучение классификатора на детерминированных выборках целевых и нецелевых ПСС, занимавшее около 4 мин.

Тестировали два типа сигналов в контуре интерфейса мозг–компьютер: с фокусированием внимания испытуемого на включение подсветки пальца фантома или на ее выключение с целью выделения режима, наиболее эффективного для управления фокусом внимания. В обоих случаях длительность самого сигнала устанавливали в 50 мс.

Эффективность управления пальцами фантома вычисляли по показателям точности управления: число правильных, неправильных и отсутствующих сгибаний пальцев фантома при выполнении задания на фокусирование внимания на конкретном пальце фантома. Статистическую обработку проводили по всем испытуемым в программе Statsoft Statistica v. 7.0. Для выявления различий в эффективности работы двух режимов использовали непараметрический критерий Вилкоксона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На рис. 1 представлены статистические данные оценки точности работы испытуемых при выборе конкретного пальца фантома для сгибания посредством перемещения на него фокуса внимания в процентах от общего числа попыток. Усредненные по группе оценки точности управления пальцами фантома руки для режимов с использованием в качестве стимулов подсветки или, наоборот, выключения подсветки не различались статистически и составляли 69 и 57 % соответственно, при том, что максимальная точность управления, показанная некоторыми испытуемыми, достигала в обоих режимах 95 %. При этом индивидуальный разброс показателей точности работы во втором режиме значительно больше, чем в первом. Это позволяет сделать вывод, что использование технологии ИМК-Р300 с размещением световых маркеров на управляемых от ИМК пальцах фантомной кисти можно взять за

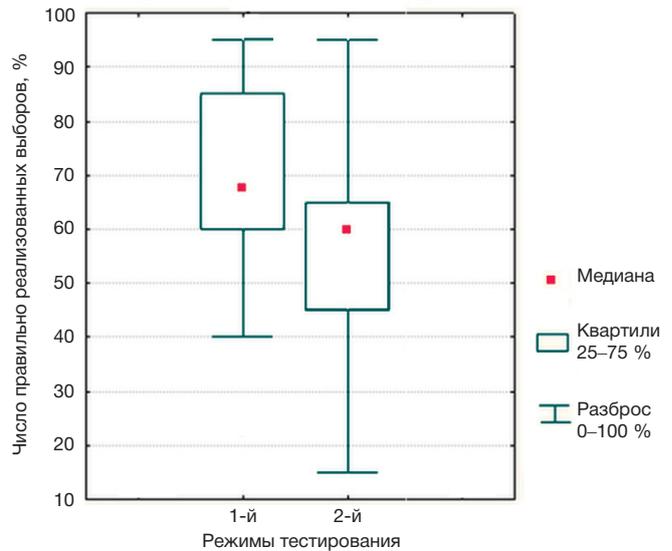


Рис. 1. Точность управления пальцами фантома кисти в двух режимах работы ИМК  
В первом и втором режимах тестирования стимулами являются включение и выключение световых маркеров соответственно.

основу для создания нейротренажера мелкой моторики с индивидуальной настройкой конкретного режима световой сигнализации.

Испытуемым, как видно из рис. 1, даже в оптимальном режиме в 30 % случаев не удается выдать команду на сгибание целевого пальца путем перемещения внимания к расположенному на этом пальце световому маркеру. Поскольку в ошибочных случаях либо сгибается нецелевой палец, либо вообще не происходит никакого действия, был выполнен анализ ошибок того и другого рода, результаты которого приведены на рис. 2. Оценки даны в абсолютных значениях числа тех и других ошибок при 20 попытках загрузить сгибание целевого пальца. Напомним, что при каждой пробе у испытуемого существует один правильный ответ и 5 неправильных (ответы четырех нецелевых пальцев и один ответ, заключающийся в отсутствии движений всех пальцев).

Как видно из рис. 2, испытуемые редко делают ошибки с выбором для сгибания нецелевого пальца, в среднем не более 1,5 ошибок за 20 попыток, но в гораздо большем числе случаев, 5–6 раз в зависимости от режима, терпят

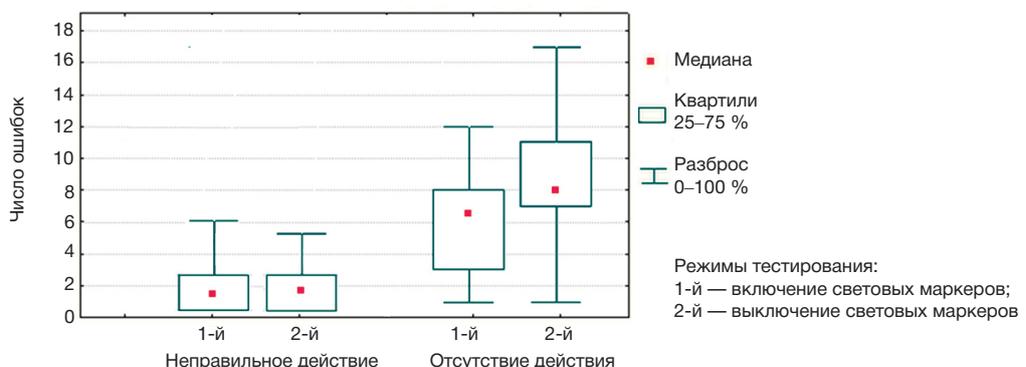


Рис. 2. Число ошибок первого и второго рода для обоих режимов тестирования при попытках испытуемых дать команду на сгибание целевого пальца путем фокусирования внимания на его световом маркере  
Отмечено статистически значимое различие по критерию Вилкоксона ( $p < 0,05$ ) при сравнении средних величин числа ошибок первого и второго рода для каждого режима тестирования.

неудачу с запуском сгибания любого пальца, оставляя фантомную кисть без движения. Статистический анализ по критерию Вилкоксона показал существование значимых различий ( $p < 0,05$ ) при сравнении числа ошибок первого и второго рода для каждого режима тестирования.

Запуск движения нецелевого пальца является, скорее всего, ошибкой, связанной с неустойчивостью внимания, вследствие чего в его фокус попадает нецелевой палец, который ложно детектируется как мишень для сгибания. В то же время отсутствие команд к пальцам фантома при завершении очередной попытки активации целевого пальца свидетельствует о недостаточной концентрации внимания к подсветкам пальцев фантома, в силу чего не формируются четко выраженные ПСС на целевой стимул, и выход классификатора не достигает пороговой величины для выдачи команды.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные данные подтвердили сделанное в начале работы предположение о возможности создания комплекса «ИМК-Р300 — Фантом кисти», в котором человек может управлять сгибанием пальцев фантома, произвольно фокусируя на них свое внимание. Поскольку наличие сгибания мысленно выбранного таким образом пальца фантома свидетельствует о достаточной выраженности мысленных усилий человека для концентрации внимания на процессе запуска движения, вполне вероятно создание на этой основе эффективного тренажера мелкой моторики кисти.

До настоящего времени, однако, неизвестны попытки использования технологии ИМК-Р300 в качестве обратной связи в контурах тренировки моторной функции, что, казалось бы, было оправдано отсутствием в этом контуре

необходимости собственно представления движения оператором, и, наоборот, привлечением его внимания к внешним объектам.

Однако с исторических работ Ботвинника и Коэна [17], многократно подтвержденных в последующем [18, 19], было известно, как при определенных условиях внешний объект, например в виде резиновой руки, может легко и надежно идентифицироваться с внутренним представлением своей собственной руки. Более того, для активации нейронов моторной коры не обязательно представлять движение собственной руки — достаточно наблюдать за аналогичным движением руки другого человека или ее искусственной копии [20, 21]. Все это вместе вкуче с полнотными в настоящей работе данными о возможности встраивания технологии ИМК-Р300 в контуры управления движениями отдельными пальцами фантома кисти свидетельствует о хорошей перспективе создания нейротренажера мелкой моторики на основе комплекса «ИМК-Р300 — Фантом кисти».

## ВЫВОДЫ

Технология интерфейса мозг-компьютер на волне Р300 может обеспечить формирование команд мысленного управления пальцами фантома кисти руки человека с надежностью не менее 69 %, что вполне достаточно для создания нейротренажеров мелкой моторики.

Большая часть ошибок оператора ИМК-Р300 при управлении пальцами фантома кисти руки человека связана с недостаточной концентрацией внимания на сигналах световых маркеров, расположенных на пальцах фантома, что указывает на необходимость совершенствования этой стимульной среды.

## Литература

- Каплан А. Я. Нерофизиологические основания и практические реализации технологии мозг-машинных интерфейсов в неврологической реабилитации. Физиол. чел. 2016; 42 (1): 118–27.
- Мокиенко О. А., Черникова Л. А., Фролов А. А., Бобров П. Д. Воображение движения и его практическое применение. Журн. высш. нервн. деят. 2013. 63 (2): 195–204.
- Park J, Lee N, Cho M, Kim D, Yang Y. Effects of mental practice on stroke patients' upper extremity function and daily activity performance. J Phys Ther Sci. 2015 Apr; 27 (4): 1075–7.
- Kho AY, Liu KP, Chung RC. Meta-analysis on the effect of mental imagery on motor recovery of the hemiplegic upper extremity function. Aust Occup Ther J. 2014 Apr; 61 (2): 38–48.
- Бернштейн Н. А. Физиология движений и активность. Газенко О. Г., редактор. М.: Наука; 1990. 494 с.
- Скворцова В. И., Крылов В. В. Геморрагический инсульт: Практическое руководство. М: ГЭОТАР-Медиа; 2005. 160 с.
- Hara Y. Brain plasticity and rehabilitation in stroke patients J Nippon Med Sch. 2015; 82 (1): 4–13.
- Mokienko OA, Chervyakov AV, Kulikova SN, Bobrov PD, Chernikova LA, Frolov AA, et al. Increased motor cortex excitability during motor imagery in brain-computer interface trained subjects. Front Comput Neurosci. 2013 Nov 22; 7: 168.
- Yuan H, He B. Brain-computer interfaces using sensorimotor rhythms: current state and future perspectives. IEEE Trans Biomed Eng. 2014 May; 61 (5): 1425–35.
- Васильев А. Н., Либуркина С. П., Каплан А. Я. Латерализация паттернов ЭЭГ у человека при представлении движений руками в интерфейсе мозг-компьютер. Журн. высш. нервн. деят. 2016; 66 (3): 1–11.
- Machado S, Lattari E, de Sá AS, Rocha NB, Yuan TF, Paes F, et al. Is mental practice an effective adjunct therapeutic strategy for upper limb motor restoration after stroke? A systematic review and meta-analysis. CNS Neurol Disord Drug Targets. 2015; 14 (5): 567–75.
- Фролов А. А., Бирюкова Е. В., Бобров П. Д., Мокиенко О. А., Платонов А. К., Пряничников В. Е. и др. Принципы нейро-реабилитации, основанные на использовании интерфейса «мозг-компьютер» и биологически адекватного управления экзоскелетом. Физиол. чел. 2013; 39 (2): 99–105.
- Powers JC, Bieliaieva K, Wu S, Nam CS. The Human Factors and Ergonomics of P300-Based Brain-Computer Interfaces. Brain Sci. 2015 Aug 10; 5 (3): 318–56.
- Bamdad M, Zarshenas H, Auais MA. Application of BCI systems in neurorehabilitation: a scoping review. Disabil Rehabil Assist Technol. 2015; 10 (5): 355–64.
- Kaplan AY, Shishkin SL, Ganin IP, Basyul IA, Zhigalov AY. Adapting the P300-based brain-computer interface for gaming: a review. IEEE Trans Comput Intell AI Games (Special Issue on Brain/Neuronal-Computer Games Interfaces and Interaction). 2013; 5 (2): 141–9.
- Cipresso P, Carelli L, Solca F, Meazzi D, Meriggi P, Poletti B, et al. The use of P300-based BCIs in amyotrophic lateral sclerosis: from augmentative and alternative communication to cognitive assessment. Brain Behav. 2012 Jul; 2 (4): 479–98.
- Botvinick M, Cohen J. Rubber hands 'feel' touch that eyes see. Nature. 1998 Feb 19; 391 (6669): 756.
- Kammers MP, de Vignemont F, Verhagen L, Dijkerman HC.

The rubber hand illusion in action. *Neuropsychologia*. 2009 Jan; 47 (1): 204–11.

19. Kalckert A, Ehrsson HH. The moving rubber hand illusion revisited: comparing movements and visuotactile stimulation to induce illusory ownership. *Conscious Cogn*. 2014 May; 26: 117–32.

20. Rizzolatti G, Fogassi L, Gallese V. Neurophysiological mechanisms

underlying the understanding and imitation of action. *Nat Rev Neurosci*. 2001 Sep; 2 (9): 661–70.

21. Gatti R, Tettamanti A, Gough PM, Riboldi E, Marinoni L, Buccino G. Action observation versus motor imagery in learning a complex motor task: a short review of literature and a kinematics study. *Neurosci Lett*. 2013 Apr 12; 540: 37–42.

References

1. Kaplan AYa. Nerofiziologicheskie osnovaniya i prakticheskie realizatsii tehnologii mozg-mashinnykh interfeisov v neurologicheskoi reabilitatsii. *Hum Physiol*. 2016; 42 (1): 118–27. Russian.

2. Mokienko OA, Chernikova LA, Frolov AA, Bobrov PD. [Motor imagery and its practical application]. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. 2013 Mar–Apr; 63 (2): 195–204. Russian.

3. Park J, Lee N, Cho M, Kim D, Yang Y. Effects of mental practice on stroke patients' upper extremity function and daily activity performance. *J Phys Ther Sci*. 2015 Apr; 27 (4): 1075–7.

4. Kho AY, Liu KP, Chung RC. Meta-analysis on the effect of mental imagery on motor recovery of the hemiplegic upper extremity function. *Aust Occup Ther J*. 2014 Apr; 61 (2): 38–48.

5. Bernshtein NA. Fiziologiya dvizhenii i aktivnost'. Gazenko OG, editor. Moscow: Nauka; 1990. 494 p. Russian.

6. Skvortsova VI, Krylov VV. Gemorragicheskii insult: Prakticheskoe rukovodstvo. Moscow: GEOTAR-Media; 2005. 160 p. Russian.

7. Hara Y. Brain plasticity and rehabilitation in stroke patients. *J Nippon Med Sch*. 2015; 82 (1): 4–13.

8. Mokienko OA, Chervyakov AV, Kulikova SN, Bobrov PD, Chernikova LA, Frolov AA, et al. Increased motor cortex excitability during motor imagery in brain-computer interface trained subjects. *Front Comput Neurosci*. 2013 Nov 22; 7: 168.

9. Yuan H, He B. Brain-computer interfaces using sensorimotor rhythms: current state and future perspectives. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2014 May; 61 (5): 1425–35.

10. Vasil'ev AN, Liburkina SP, Kaplan AYa. Lateralizatsiya patternov EEG u cheloveka pri predstavlenii dvizhenii rukami v interfeise mozg-komp'yuter. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. 2016; 66 (3): 1–11. Russian.

11. Machado S, Lattari E, de Sá AS, Rocha NB, Yuan TF, Paes F, et al. Is mental practice an effective adjunct therapeutic strategy for upper limb motor restoration after stroke? A systematic review and meta-analysis. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2015; 14 (5): 567–75.

12. Frolov AA, Biryukova EV, Bobrov PD, Mokienko OA, Platonov AK, Pryanichnikov VE, et al. Printsipy neiroreabilitatsii, osnovannye na ispol'zovanii interfeisa "mozg-komp'yuter" i biologicheskii adekvatnogo upravleniya ekzoskeletonom. *Hum Physiol*. 2013; 39 (2): 99–105. Russian.

13. Powers JC, Bielaieva K, Wu S, Nam CS. The Human Factors and Ergonomics of P300-Based Brain-Computer Interfaces. *Brain Sci*. 2015 Aug 10; 5 (3): 318–56.

14. Bamdad M, Zarshenas H, Auais MA. Application of BCI systems in neurorehabilitation: a scoping review. *Disabil Rehabil Assist Technol*. 2015; 10 (5): 355–64.

15. Kaplan AY, Shishkin SL, Ganin IP, Basyul IA, Zhigalov AY. Adapting the P300-based brain-computer interface for gaming: a review. *IEEE Trans Comput Intell AI Games (Special Issue on Brain/Neuronal-Computer Games Interfaces and Interaction)*. 2013; 5 (2): 141–9.

16. Cipresso P, Carelli L, Solca F, Meazzi D, Meriggi P, Poletti B, et al. The use of P300-based BCIs in amyotrophic lateral sclerosis: from augmentative and alternative communication to cognitive assessment. *Brain Behav*. 2012 Jul; 2 (4): 479–98.

17. Botvinick M, Cohen J. Rubber hands 'feel' touch that eyes see. *Nature*. 1998 Feb 19; 391 (6669): 756.

18. Kammers MP, de Vignemont F, Verhagen L, Dijkerman HC. The rubber hand illusion in action. *Neuropsychologia*. 2009 Jan; 47 (1): 204–11.

19. Kalckert A, Ehrsson HH. The moving rubber hand illusion revisited: comparing movements and visuotactile stimulation to induce illusory ownership. *Conscious Cogn*. 2014 May; 26: 117–32.

20. Rizzolatti G, Fogassi L, Gallese V. Neurophysiological mechanisms underlying the understanding and imitation of action. *Nat Rev Neurosci*. 2001 Sep; 2 (9): 661–70.

21. Gatti R, Tettamanti A, Gough PM, Riboldi E, Marinoni L, Buccino G. Action observation versus motor imagery in learning a complex motor task: a short review of literature and a kinematics study. *Neurosci Lett*. 2013 Apr 12; 540: 37–42.

## РАЗРАБОТКА НЕЙРОУСТРОЙСТВА С БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБРАТНОЙ СВЯЗЬЮ ДЛЯ ВОСПОЛНЕНИЯ УТРАЧЕННЫХ ДВИГАТЕЛЬНЫХ ФУНКЦИЙ

Е. А. Богданов<sup>1✉</sup>, В. А. Петров<sup>1</sup>, С. А. Ботман<sup>1</sup>, В. В. Сапунов<sup>1</sup>, В. А. Ступин<sup>2</sup>, Е. В. Силина<sup>3</sup>, Т. Г. Синельникова<sup>3</sup>, М. В. Патрушев<sup>1</sup>, Н. Н. Шушарина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Химико-биологический институт,

Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград

<sup>2</sup>Кафедра госпитальной хирургии № 1, лечебный факультет,

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

<sup>3</sup>Кафедра патологии человека, Институт профессионального образования,

Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Москва

Одновременное использование электрофизиологических сигналов нескольких типов (данных электроэнцефалограммы (ЭЭГ), электромиограммы (ЭМГ), электроокулограммы (ЭОГ) и др.) обеспечивает более высокую эффективность систем управления внешними устройствами — нейропротезами, экзоскелетами, роботизированными инвалидными креслами и телеуправляемыми роботами. В статье представлены результаты первых испытаний многофункционального нейроустройства, способного распознавать одновременно ЭЭГ-, ЭМГ- и ЭОГ-сигналы (последние — с подключением модулей фотоплетизмограммы, SpO<sub>2</sub> и температуры). Результаты измерений сигналов с помощью разработки сравнили с данными прибора KARDi3 («Медицинские компьютерные системы», Россия) и мультиметра Fluke 17b с подключаемым термистором (Fluke Corporation, США). По информативности и точности данные были сопоставимы. Также исследовали эффективность гибридизации ЭЭГ- и ЭМГ-сигналов с помощью нейроустройства: она позволила увеличить точность классификации у всех испытуемых в среднем на 12,5 % — до среднего значения 86,8 % (от 75 до 97 %).

**Ключевые слова:** нейроустройство, экзоскелет, интерфейс мозг–компьютер, электроэнцефалограмма, электромиограмма, электроокулограмма, биологическая обратная связь

**Финансирование:** работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (Соглашение о предоставлении субсидии от 27.10.2015 № RFMEFI57815X0140).

**Благодарности:** авторы благодарят Александра Романова из Центра реабилитации Управления делами Президента РФ (Москва), Рафаэля Оганова из Государственного научно-исследовательского центра профилактической медицины (Москва), Даниила Борчевкина, Алексея Белоусова, Владимира Савинова, Сергея Соколова и Алексея Медведева за плодотворное научное сотрудничество и вклад в работу.

✉ **Для корреспонденции:** Евгений Анатольевич Богданов  
236041, г. Калининград, ул. А. Невского, д. 14; eubogdanov@gmail.com

**Статья получена:** 31.03.2016 **Статья принята к печати:** 07.04.2016

## DEVELOPMENT OF A NEURODEVICE WITH A BIOLOGICAL FEEDBACK FOR COMPENSATING FOR LOST MOTOR FUNCTIONS

Bogdanov EA<sup>1✉</sup>, Petrov VA<sup>1</sup>, Botman SA<sup>1</sup>, Sapunov VV<sup>1</sup>, Stupin VA<sup>2</sup>, Silina EV<sup>3</sup>, Sinelnikova TG<sup>3</sup>, Patrushev MV<sup>1</sup>, Shusharina NN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Chemistry and Biology,

Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

<sup>2</sup>Department of Hospital Surgery no.1, Faculty of General Medicine,

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>3</sup>Department of Human Pathology, Faculty of Postgraduate Professional Training of Physicians,

The First Sechenov Moscow State Medical University, Moscow

Concurrent use of electrophysiological signals of various types, such as obtained from electroencephalogram (EEG), electromyogram (EMG), electrooculogram (EOG), and others, increases the effectiveness of systems for external device control, namely, neural prostheses, exoskeletons, robotic wheelchairs and teleoperated robots. This article presents the results of the first tests of a multifunctional neurodevice capable of detecting EEG, EMG and EOG signals simultaneously (with EOG signals photoplethysmogram, SpO<sub>2</sub> and temperature modules of the neurodevice were used). Measurement results were then compared to the data obtained from KARDi3 device (Medical Computer Systems, Russia) and Fluke 17b multimeter with a plug-in thermistor (Fluke Corporation, USA). The informative value and accuracy of both datasets were comparable. We also studied the effectiveness of EEG and EMG signal hybridization on the basis of the neurodevice of interest; it allowed for an increase of classification accuracy in all subjects by an average of 12.5 % up to the mean of 86.8 % (from 75 to 97 %).

**Keywords:** neurodevice, exoskeleton, brain-computer interface, electroencephalogram, electromyogram, electrooculogram, biological feedback

**Funding:** the work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (Grant Agreement no. RFMEFI57815X0140 dated October 27, 2015).

**Acknowledgements:** the authors thank Alexandr Romanov of the Rehabilitation Center of the Administrative Department of the President of the Russian Federation, Moscow; Raphael Oganov of State Research Center for Preventive Medicine, Moscow; Daniil Borchevkin, Alexey Belousov, Vladimir Savinov, Sergey Sokolov, and Alexey Medvedev for their scientific contribution and productive collaboration.

✉ **Correspondence should be addressed:** Evgeny A. Bogdanov  
ul. A. Nevskogo, d. 14, Kaliningrad, Russia, 236041; eubogdanov@gmail.com

**Received:** 31.03.2016 **Accepted:** 07.04.2016

Прикладная биоробототехника обеспечивает повышение качества жизни пациентов с неврологическими нарушениями и травмами. Нейропротезы, экзоскелеты, роботизированные инвалидные кресла и телеуправляемые роботы помогают в реабилитации больных, замещают утраченные функции или усиливают физические возможности здоровых людей.

При создании таких устройств важен выбор системы управления. Она должна обеспечивать точность, стабильность и безопасность при длительной работе устройства. Большинство существующих решений основаны на регистрации биопотенциалов человеческого тела такими методами, как электромиография (ЭМГ), электроэнцефалография (ЭЭГ), электроокулография (ЭОГ) и электрокардиография (ЭКГ) [1–6].

Эффективность методов на основе ЭМГ была продемонстрирована на примере инвалидных кресел, протезов, экзоскелетов [7–9]. Однако использования только лишь ЭМГ недостаточно, если человек не в состоянии сгенерировать мышечный сигнал необходимой силы, например после инсульта или травмы спинного мозга. В таких случаях прибегают к помощи интерфейсов мозг–компьютер (ИМК), предполагающих преобразование считанных с неповрежденных участков мозга сигналов в команды внешним устройствам. В недавней работе [10] была продемонстрирована высокая эффективность ИМК при управлении нейропротезом пациентом с тетраплегией, но сохранными сенсорной и когнитивной функциями.

Среди способов регистрации сигналов мозга наиболее удобным является регистрация ЭЭГ в силу ее доступности, безопасности, низкой стоимости и мобильности. Кора головного мозга разделена на множество функционально специализированных зон, в которых обнаруживаются волны различной частоты [11]. Спектр ЭЭГ-активности у каждого человека индивидуален и, как показали длительные измерения [12], непрерывно меняется в зависимости от его физиологического состояния и деятельности. Декодируя сигналы ЭЭГ, можно различать движения конечностей с достаточно высокой точностью. Так, был предложен алгоритм, позволивший реконструировать углы в суставах пальцев при дотягивании с захватом, при этом точность ЭЭГ-сигнала составила 76 % [13]. В другой работе была продемонстрирована возможность определять одно из пяти выполняемых или воображаемых движений запястья и пальцев рук с точностью 65–71 % [14].

Вопреки мнению о необходимости использовать большое число каналов регистрации ЭЭГ для точного считывания Yang и соавт. [15] смогли исключить шумы и представили модернизированную классификацию сигналов ЭЭГ, регистрируемой по 6 каналам из 32, для искусственной нейронной сети и управления роботизированным устройством, при этом точность классификации при выполнении определенных двигательных задач достигла 86 %. Тем не менее, ЭЭГ-интерфейсы мозг–компьютер по-прежнему не лишены недостатков, вызываемых смещением или неправильным наложением электродов, шумами и артефактами, несовершенством алгоритмов фильтрации и обработки сигналов.

Некоторые исследователи предложили комбинировать методы ЭМГ и ЭЭГ [16–18]. Например, при парезе или отсутствии конечности для компенсации слабости сигналов ЭМГ можно дополнительно использовать сигнал ЭЭГ, обеспечивая движение протеза или экзоскелета ментальным усилием. При нормальном ЭМГ-сигнале ЭЭГ-сигнал помогает снизить влияние тремора, утомления или артефактов.

Leeb и соавт. [19] была предложена гибридная ЭЭГ-ЭМГ-система управления, эффективность которой оценили на 6 здоровых добровольцах. Испытуемые должны были двигать левой или правой рукой в течение 5 с (всего 60 повторений). Мозговую активность записывали посредством 16-ти датчиков, размещенных по стандартной схеме 10/20. Мышечную активность записывали со сгибателей и разгибателей левого и правого предплечий. Полученные ЭМГ-сигналы выпрямлялись и усреднялись (с временным интервалом 0,3 с) для получения огибающей, а затем данные двух классификаторов объединили для получения управляющего сигнала. Гибридная система продемонстрировала высокую точность классификации для всех испытуемых. Несмотря на то, что ЭМГ-сигналы были достаточно информативными (точность классификации составила в среднем 83 %), гибридный подход показал большую эффективность (91 %), особенно при нарастании мышечной усталости.

Xie и соавт. также разработали гибридный ИМК на основе ЭЭГ (визуализация намерения движения) и ЭМГ [20]. В исследовании приняли участие 10 пациентов, перенесших инсульт с нетяжелым гемипарезом, 10 пациентов с заболеваниями периферической нервной системы и 10 здоровых людей (все — в возрасте 20–58 лет). На этапе калибровки каждый испытуемый ложился на кровать и сгибал и разгибал ногу в коленном суставе, а датчик измерения угла и силы определял соответствующие параметры движения, которые впоследствии использовали в качестве целевых. Затем устанавливали датчики ЭЭГ/ЭМГ и проводили испытания, целью которых было соотнесение ЭЭГ/ЭМГ-сигналов с движением ноги и определение точности потенциальных управляющих команд для внешнего устройства. Оценивали результаты только ЭЭГ-сигналов, затем — только ЭМГ-сигналов, а затем применяли гибридный подход. Результаты эксперимента показали, что использование гибридной оценки позволило увеличить точность классификации в сравнении с одномодальными вариантами во всех группах. Для здоровых людей она составила 98 %, для перенесших инсульт — 84 %, для пациентов с патологиями периферической нервной системы — 85 %.

Kiguchi и соавт. [21] провели исследование гибридной ЭЭГ-ЭМГ-системы с оценкой ее эффективности при движении руками с помощью роботизированного устройства SUEFUL-7 [22]. Робот оснащен камерой и способен распознавать положение руки за счет датчиков угла поворота и силы. В качестве управляющей системы использовали 16-канальный ЭМГ-интерфейс, снимавший данные с руки и плечевого пояса. В эксперименте участвовали 4 здоровых человека в возрасте 23 лет. На них надевали экзоскелет и устройство для снятия ЭЭГ и оценки реакции. В первом опыте испытуемые сгибали и разгибали руку в локтевом суставе, а робот выполнял противоположное действие, препятствуя движению. Во втором опыте на столе размещали две пустые чашки и одну полную. При взятии испытуемым полной чашки робот использовал алгоритм помощи, который оценивал положение пустых чашек с помощью камеры и случайным образом выбирал одну из них, после чего помогал испытуемому перелить жидкость. Правильность выбора оценивалась по ЭЭГ- и ЭМГ-сигналам. Если испытуемый не сопротивлялся, это означало для робота, что цель была выбрана правильно. В описанном опыте оценивалась гибкость вспомогательного робота и его способность правильно интерпретировать намерения испытуемого. Результаты эксперимента показали повышение точности интерпретации роботом действий человека.

Увеличивать эффективность работы ИМК могут и данные электроокулограммы, регистрируемой совместно с ЭЭГ. Так, группой ученых была разработана система, представляющая собой гибридный ИМК на основе ЭЭГ и ЭОГ для повышения надежности длительного использования экзоскелета руки при выполнении хватательных движений [23]. Сигналы ЭЭГ снимали с пяти точек, размещенных по схеме 10/20. Эксперимент состоял из двух частей. В первой части испытуемые должны были управлять экзоскелетом только посредством сигналов ЭЭГ и выполнять движение сжимания при наличии визуального сигнала (зеленый — начать движение, красный — фаза отдыха). При этом механическая кисть автоматически разжималась, если команды от мозга оператора были недостаточно сильными, чтобы преодолеть заданный порог. Во второй части опыта использовались сигналы ЭОГ в качестве переключателя. Когда испытуемый отводил взгляд влево или вправо, кисть экзоскелета разжималась независимо от сигналов ЭЭГ. Гибридная модель повысила безопасность работы системы. При использовании только сигналов ЭЭГ у половины испытуемых в фазе отдыха механическая кисть была сжата более чем на 25 %, в то время как гибридная система демонстрировала превышение заданного порога только у 10,4 % испытуемых, причем максимальное сжатие не превышало 28 % (в одномодальной системе оно достигало 60 %).

Работа сердечно-сосудистой системы, которую оценивают с помощью мониторинга артериального давления и частоты сердечных сокращений (ЧСС), коррелирует с активностью головного мозга, в том числе при выполнении двигательных задач [24–26]. Результаты исследований по изучению работы сердца при изменении мыслительной активности, оцениваемой с помощью ЭЭГ, говорят о перспективности использования гибридных ЭЭГ-ЭКГ-систем [27–29]. Так, в эксперименте при участии 6 здоровых мужчин-правшей (средний возраст — 28 лет), которые визуализировали движения левой ноги или левой руки, оценивали точность классификации сигналов только ЭЭГ и только ЭКГ, а также сигналы обеих записей [29]. Для каждого из испытуемых было проведено по 180 сессий (60 для каждого варианта), состоявших из трех этапов: первые 6 с — время отдыха (в этот момент проводилась обработка данных из предыдущей сессии); затем следовала демонстрация индикатора, случайным образом указывающего необходимое действие (визуализация движения руки/ноги или отдых), на совершение которого также давалось 6 с; последний этап — пауза произвольной длительности (несколько секунд). Сигналы ЭЭГ снимались с трех каналов (C3, C4, Cz по стандартной схеме 10/20) совместно с сигналами R-R-интервалов ЭКГ, получаемых от разницы между отфильтрованными на частотах 5–10 Гц QRS-комплексами, показывающими ЧСС. Полученные данные позволили сделать несколько интересных выводов. Во-первых, активная визуализация движений конечностей вызывала изменения ЧСС. Во-вторых, точность классификации на основе ЭКГ оказалась весьма высокой: у многих испытуемых эта модальность была эффективнее ЭЭГ. В-третьих, гибридный подход повысил точность классификации практически для всех участников исследования, а больше всего для тех, чьи результаты в одномодальном режиме были невысоки.

Таким образом, гибридный подход к реализации управляющих систем для внешних устройств весьма перспективен. Учитывая скорость развития данных технологий, появление на рынке высокоточного нейророботства на

основе этого подхода возможно уже в ближайшее время. Нами на базе лаборатории нейробиологии и медицинской физики Химико-биологического института Балтийского федерального университета имени Иммануила Канта разрабатывается многофункциональное нейророботство, способное распознавать одновременно различные электрофизиологические сигналы (ЭЭГ, ЭМГ, ЭОГ с подключением модулей фотоплетизмограммы, SpO<sub>2</sub> и температуры), обеспечивать биологическую обратную связь и передавать обработанную информацию на экзоскелетные и роботизированные конструкции в режиме реального времени. В статье представлены результаты первых испытаний макета нейророботства и оценка возможности совместной регистрации ЭЭГ- и ЭМГ-сигналов с помощью разработки.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами был создан макет электрофизиологического и биометрического регистратора, способного преобразовывать биосигналы в команды для электромеханического устройства, после чего мы провели его испытания, включавшие два этапа. На первом из них с его помощью исследовали двигательную активность испытуемых, а также сопоставляли данные регистрации электрофизиологических сигналов с устройства с данными зарекомендовавших себя на медицинском рынке аналитических приборов (чтобы объективно оценить работоспособность разработки). В этой части эксперимента приняли участие два здоровых мужчины (возраст: 22 и 23 года; рост: 175 и 177 см; вес: 70 и 75 кг). На втором этапе оценивали возможность совместной регистрации сигналов ЭЭГ и ЭМГ с помощью нейророботства. В исследовании приняли участие 10 здоровых мужчин (правши) в возрасте 22–29 лет (средний возраст — 25 лет).

Электрическая активность головного мозга, отводимая с кожи головы, была измерена методом электроэнцефалограммы; биоэлектрические потенциалы, возникающие в скелетных мышцах, — методом электромиографии; биопотенциалы, возникающие во время движения глазного яблока, — методом электроокулографии; температура тела — методом термометрии; двигательная активность по изменению углов Эйлера — методом физических упражнений; подсчет пульса был проведен методом фотоплетизмографии. Все полученные данные регистрировались в графическом и цифровом виде.

Для снятия ЭЭГ использовали чашечные электроды из серебра (Ag/AgCl), размещенные на голове испытуемых при помощи шапочки, для снятия ЭМГ и ЭОГ — серебряные пластинчатые электроды. При проведении исследования с оценкой характеристик физиологических сигналов определяли наиболее часто встречающиеся артефакты: артефакты от плохо закрепленных электродов и электрических помех от движений испытуемого, артефакты, вызванные напряжением мышц корпуса и сморщиванием лба, мышечные потенциалы, потенциалы кожи, моргание, пульсовые волны.

Двигательная активность была исследована путем выполнения упражнений по наклону и повороту головы влево, вправо, вперед, назад с закрепленным на ней макетом нейророботства. Для этого нами была написана программа по визуализации углов Эйлера в режиме реального времени.

Результаты регистрации ЭЭГ-, ЭМГ- и ЭОГ-сигналов и данные о частоте пульса сравнивали с результатами,

полученными на приборе KARDi3 («Медицинские компьютерные системы», Россия), предназначенного для регистрации и анализа ЭКГ, ЭОГ, ЭЭГ и некоторых других показателей. Сначала было проведено измерение с помощью KARDi3, затем — с помощью макета нейростройства. Испытуемый всё время находился в одном положении. Электроды на теле были статичны, их положение при переключении с KARDi3 на макет нейростройства не меняли. Провода от электродов были свиты и зажгутрованы с целью уменьшения количества артефактов.

При регистрации ЭЭГ сфокусировались на альфа-ритме, который в норме является наиболее стабильным электрофизиологическим сигналом. Для его регистрации использовали схему размещения электродов с биполярным отведением. Электроды были закреплены на затылке, референтные электроды — на мочках ушей. Испытуемый находился в положении «полулежача» для максимального расслабления мышц шеи и головы и уменьшения количества миографических артефактов (число испытаний — 100). Для макета нейростройства и прибора KARDi3 были использованы одинаковые режимы регистрации: фильтр низких частот 30 Гц, фильтр высоких частот 0,5 Гц, режекторный фильтр 50 Гц, развертка по оси X — 30 мм/с, развертка по оси Y — 50 мкВ/мм.

Сигналы ЭОГ регистрировали при движении глаз во время выполнения следующих зрительных упражнений (число испытаний — 100): середина (желтая точка) — вверх (красный круг) — середина (желтая точка) — вниз (синий круг) — середина (желтая точка) — налево (красный крестик) — середина (желтая точка) — направо (синий крестик) — середина (желтая точка). Испытуемый сидел напротив доски с графическими символами. Для регистрации сигнала использовали схему размещения двух электродов с биполярным отведением. Электроды были закреплены на висках, около правого глаза и на лбу. Для макета нейростройства и прибора KARDi3 были использованы одинаковые режимы регистрации: фильтр низких частот 40 Гц; фильтр высоких частот 1 Гц; режекторный фильтр 50 Гц; развертка по оси X — 15 мм/с; развертка по оси Y — 50 мкВ/мм.

Сигналы ЭМГ регистрировали при сокращении мышц бедра путем движения правой ноги вперед — имитируя шаг (число испытаний — 100). При этом левая нога оставалась неподвижной, опор на правую ногу с электродами не осуществлялась. Испытуемый стоял, точками опоры служили левая нога и правая рука, а правая нога с электродами находилась в расслабленном состоянии. Расстояние между электродами составило 5 см. Для регистрации сигнала использовали схему размещения одного электрода с биполярным отведением. Электроды были закреплены на бедренной мышце посредством клейких колец. Для макета нейростройства и прибора KARDi3 были использованы одинаковые режимы регистрации: фильтр низких частот 100 Гц; фильтр высоких частот 1 Гц; режекторный фильтр 50 Гц; развертка по оси X — 120 мм/с; развертка по оси Y — 10 мкВ/мм.

Для регистрации данных ЭЭГ, ЭМГ и ЭОГ с нейростройства было разработано собственное программное обеспечение. Для регистрации данных с прибора KARDi3 была использована программа «Неокортекс» («Нейроботикс», Россия).

При измерении частоты пульса испытуемый сидел. Для регистрации сигнала ЭКГ (число испытаний — 100) на запястьях посредством клейких колец были закреплены электроды KARDi3 с использованием схемы размещения одного электрода с биполярным отведением. Далее испы-

туемый прикладывал палец к модулю фотоплетизмограммы макета нейростройства, и на выходе получали обусловленный пульсацией сигнал. Измерение частоты пульса с помощью нейростройства было дополнено пульсоксиметрией (SpO<sub>2</sub>). Для макета нейростройства и прибора KARDi3 был использован следующий режим регистрации: фильтр низких частот 0,1 Гц; фильтр высоких частот 50 Гц; режекторный фильтр 50 Гц; развертка по оси X — 60 мм/с; развертка по оси Y — 20 мкВ/мм. Для обработки данных о частоте пульса с KARDi3 применяли программу «Неокортекс», а для макета нейростройства — программу Heart Rate Monitor Demo (Silicon Labs, США).

Для сравнения точности измерений температуры тела использовали мультиметр Fluke 17b с подключаемым термистором (Fluke Corporation, США). Датчик температуры размещали на лбу испытуемого посредством клейкого кольца (число испытаний — 136). Данные о температуре передавались на персональный компьютер по протоколу Bluetooth ежесекундно.

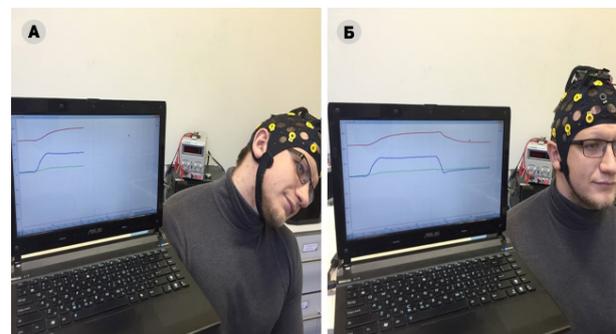
На втором этапе испытаний исследовали возможность совместной регистрации ЭЭГ- и ЭМГ-сигналов, снятых с помощью разрабатываемого нейростройства для обеспечения последующей совместной работы в комплексе с роботизированной техникой, в том числе экзоскелетом.

По инструкции испытуемые должны были визуализировать движения левой ноги, а затем сгибать и разгибать бедро. Для оценки точности классификации использовали вначале только сигналы ЭМГ, затем — ЭМГ + ЭЭГ. Каждый участник эксперимента выполнил по 10 сессий для визуализации движения и выполнения движения.

Оценку физиологических параметров производили непрерывно как во время движения, так и во время отдыха между командами (5 с). Для классификации применяли линейный дискриминантный анализ Фишера.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе исследования двигательной активности при выполнении серии упражнений по наклону и повороту головы влево, вправо, вперед, назад были получены результаты, свидетельствующие о высокой точности и четкости получаемых данных с помощью датчика движения макета нейростройства. На графике (рис. 1) отображено изменение углов Эйлера (ось X — время, ось Y — угол): 1) тангаж — движение относительно поперечной оси (зеленая линия); 2) крен — движение относительно продольной оси (синяя линия); 3) рысканье — движение относительно вертикальной оси (красная линия).



**Рис. 1.** Изменение углов Эйлера при выполнении упражнений головой. (А) При наклоне головы влево. (Б) При возврате в исходное положение (происходит изменение углов крена и рысканья, угол тангажа не меняется, гироскоп возвращается в исходное положение)

Данные ЭЭГ, полученные с помощью макета нейроробота, характеризовались теми же артефактами, что и данные ЭЭГ, полученные на приборе KARDi3, и число артефактов было сопоставимым. Это свидетельствует о конкурентоспособности разрабатываемого нейроробота в том, что касается регистрации ЭЭГ-сигналов. Артефакты мышечной активности были связаны с небольшими движениями шеи и головы, вызванными утомлением испытуемого. На многих электроэнцефалограммах присутствовал артефакт кардиограммы, что может быть связано как с индивидуальными особенностями сердечно-сосудистой системы испытуемого, так и с наложением электрода на подкожную артерию.

Данные ЭОГ, полученные с помощью макета нейроробота, по информативности были сопоставимы с данными, полученными с прибора KARDi3, при этом для нашей разработки число артефактов было меньше. Самым частым артефактом было моргание, проявлявшееся в виде резкого возрастания амплитуды ЭОГ, а также артефакты mimической мускулатуры, возникавшие при утомлении испытуемого.

При оценке качества сигналов ЭМГ было установлено, что данные, полученные с помощью макета нейроробота, обладают такой же информативностью, что и данные, полученные с прибора KARDi3. Артефактов обнаружено не было.

Результаты проведенных с помощью нейроробота измерений температуры были сопоставимы с результатами, показанными референтным прибором Fluke 17b. Диапазон температур, снятых с обоих устройств, составил в среднем 0,3 %.

Регистрируемый пульсовый сигнал был получен двумя способами: путем записи электрокардиограммы с помощью прибора KARDi3 и с помощью модуля фотоплетизмограммы макета нейроробота. Данные R-R-интервальной оценки ЭКГ, полученные на KARDi3, характеризовались теми же значениями пульса, что были определены с помощью модуля фотоплетизмографии нейроробота. У первого испытуемого среднее значение ЧСС было равно 78 и 77 уд./мин при измерении на KARDi3 и нейророботе соответственно, а у второго — 72 и 71 уд./мин. Артефактов, влиявших на результат, обнаружено не было (рис. 2).

Следует отметить, что разработанный модуль для оценки работы сердечно-сосудистой системы включает оценку насыщения крови кислородом, что также может давать ценную информацию для управления экзоскелетами.

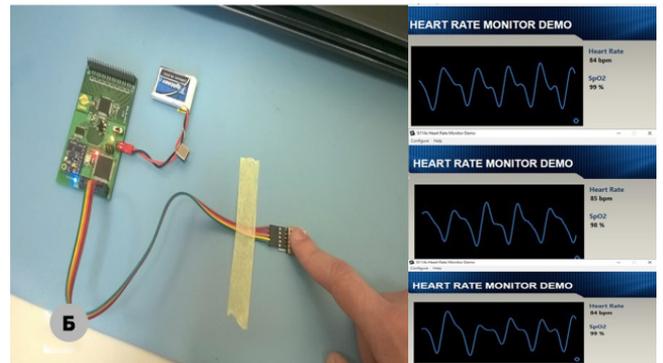
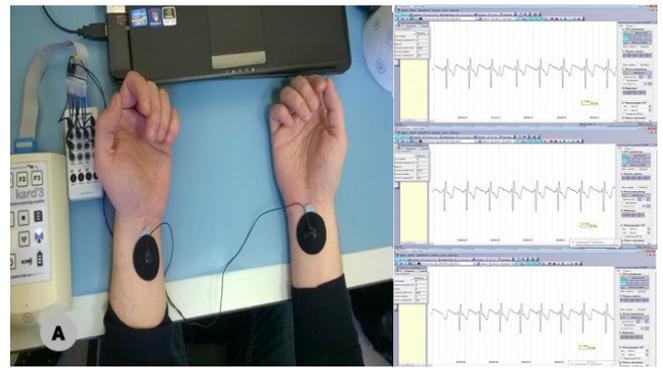


Рис. 2. Исследование сердечной деятельности. (А) Размещение электродов и ЭКГ, полученная с помощью KARDi3. (Б) Получение фотоплетизмограммы и SpO2 с помощью макета нейроробота

В ходе исследования эффективности гибридации сигнала ЭЭГ и ЭМГ были получены результаты, свидетельствующие в пользу слияния нескольких электрофизиологических сигналов. Эксперимент показал, что точность ЭМГ составила в среднем 74,3 %, а гибридация ЭМГ и ЭЭГ позволила увеличить у всех испытуемых точность классификации в среднем на 12,5 % — до среднего значения 86,8 % (от 75,0 до 97,0 %). Результаты каждого испытуемого представлены в таблице.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Перспективность создания высокоточного многофункционального нейроробота, позволяющего длительное время снимать физиологические сигналы и передавать информацию на внешнее устройство (экзоскелет),

Точность классификации сигналов ЭМГ и ЭЭГ при одномодальном и гибридном подходах, %

Испытуемый	Сигналы ЭМГ	Сигналы ЭМГ + ЭЭГ	Динамика
1	84,0	93,0	+ 9,0
2	72,0	84,0	+ 12,0
3	77,0	88,0	+ 11,0
4	92,0	97,0	+ 5,0
5	70,0	93,0	+ 23,0
6	63,0	79,0	+ 16,0
7	69,0	81,0	+ 12,0
8	75,0	90,0	+ 15,0
9	61,0	75,0	+ 14,0
10	80,0	88,0	+ 8,0
Среднее	74,3	86,8	+ 12,5

очевидна. В данной связи была проведена настоящая мультидисциплинарная работа, на первом этапе которой был создан макет нейроробота и проведены его испытания, результаты которых показали тождественность получаемых сигналов сигналам надежных аналитических устройств.

При некоторых измерениях двигательной активности наблюдалось плавание гироскопа, связанное с изменением магнитного поля, формируемого аккумуляторной батареей. Это было обусловлено относительно мягким креплением аккумулятора к макету, и при его жесткой фиксации недостаток был устранен. При недостаточно хорошем закреплении макета нейроробота на теле пациента иногда наблюдалось одновременное изменение более чем двух углов при выполнении одного упражнения. Эта погрешность объясняется также «многослойностью электроники»: компоненты гироскопа размещены на модуле движения, модуль движения — на макете нейроробота, макет закреплен на голове испытуемого. Влияло и относительно ровное движение шеи испытуемого. При изготовлении экспериментального образца нейроробота это будет учтено и будет использована программно-аппаратная автокалибровка положения относительно испытуемого. В экспериментальном образце основными измеряемыми параметрами двигательной активности будут являться линейное ускорение акселерометра, угловое ускорение гироскопа и вектор магнитного поля магнитометра. Выявленные при регистрации ЭМГ и ЭОГ мышечные (двигательные) артефакты в дальнейшем будут устранены за счет использования дополнительных режекторных фильтров или программным путем. Артефакт кардиограммы может быть устранен путем изменения закрепления электродов со статичного на динамичное, с возможностью смещать их не менее чем на 10 мм. Это позволит сдвинуть электрод в случае попадания на сосуд. Кроме того, усовершенствование оснастки для крепления электродов также будет способствовать сокращению числа артефактов.

Результаты эксперимента гибридизации ЭЭГ- и ЭМГ-сигналов продемонстрировали существенное преимущество гибридных ИМК над одноmodalными и подтвердили целесообразность одновременной регистрации различных физиологических сигналов [19–21, 23, 29]. За счет более высокой точности классификации и гибкости слияния гибридная система обладает потенциально большей надежностью и производительностью. Полученные нами результаты позволяют заключить, что совместное использование ЭЭГ- и ЭМГ-сигналов улучшает точность

интерпретации планируемой и реальной физической активности. Не зависящие от мышечной работы сигналы ЭЭГ являются дополнительным идентификатором, что можно использовать в роботизированной технике. Предполагается, что доработка системы и одновременное использование разных физиологических сигналов позволит приблизить точность классификации к 100 %.

В настоящее время опубликовано незначительное число работ с описанием подобных экспериментов, и все они не являются репрезентативными по числу испытуемых. Для повышения точности классификации сигналов и, следовательно, безопасности роботизированных устройств, необходимо проведение дальнейших исследований для преодоления нескольких трудностей. Во-первых, проблемой является смещение электродов, при этом от правильности их расположения зависят интенсивность, качество и повторяемость сигналов. В связи с этим перспективна разработка, например, бесконтактных технологий. Во-вторых, сигналы в значительной степени подвержены искажениям различными шумами. В-третьих, сложное движение при участии нескольких мышц (например, мышц кисти, предплечья, плечевого пояса и туловища) генерируется достаточно большим числом участков моторной коры, при этом размер каждого участка индивидуален, что пока ограничивает возможность моделирования сложных движений. Для решения этой проблемы требуются технологии, способные выделять целевые движения из интерференционных. Уже предлагаются некоторые решения, в том числе инвазивные нейроинтерфейсы на основе электрокортикографии [30, 31].

## Выводы

Результаты испытаний разрабатываемого нейроробота, способного распознавать одновременно различные электрофизиологические сигналы, подтвердили перспективность гибридного подхода к реализации управляющих систем для внешних устройств. Слияние нескольких modalностей или переключение между ними для выбора той, что наилучшим образом интерпретирует намерения человека, не только увеличивает точность классификации сигнала, но и указывает на потенциально более высокую производительность роботизированной техники. Необходимо проведение дальнейших испытаний разрабатываемого нейроробота с большим числом испытуемых, в том числе с различными нозологиями.

## Литература

1. Singh RM, Chatterji S, Kumar A. Trends and challenges in EMG based control scheme of exoskeleton robots — a review. *Int J Sci Eng Res*. 2012; 3 (9): 933–40.
2. Artemiadis P. EMG-based robot control interfaces: past, present and future. *Adv Robot Autom*. 2012, 1 (2): e107.
3. Li G. Electromyography pattern-recognition-based control of powered multifunctional upper-limb prostheses. In: Mizrahi J, editor. *Advances in applied electromyography*. InTech; 2011. 224 p.
4. Kim Y, Doh NL, Youm Y, Chung WK. Robust discrimination method of the electrooculogram signals for human-computer interaction controlling mobile robot. *Intell Autom Soft Comp*. 2007; 13 (3): 319–36.
5. Oonishi Y, Oh S, Hori Y. New control method for power-assisted wheelchair based on upper extremity movement using surface myoelectric signal. 2008 10th IEEE International Workshop on Advanced Motion Control. 2008; 498–503.
6. Gu Y, Dremstrup K, Farina D. Single-trial discrimination of type and speed of wrist movements from EEG recordings. *Clin Neurophysiol*. 2009 Aug; 120 (8): 1596–600.
7. Shenoy P, Miller KJ, Crawford B, Rao RP. Online electromyographic control of a robotic prosthesis. *IEEE Trans Biom Eng*. 2008 Mar; 55 (3): 1128–35.
8. Kiguchi K, Hayashi Y. An EMG-based control for an upper-limb power-assist exoskeleton robot. *IEEE Trans Syst Man Cybern B Cybern*. 2012 Aug; 42 (4): 1064–71.
9. Rosen J, Brand M, Fuchs MB, Arcan M. A myosignal-based powered exoskeleton system. *IEEE Trans Syst Man Cybern A Syst Hum*. 2001; 31 (3): 210–22.
10. Collinger JL, Wodlinger B, Downey JE, Wang W, Tyler-Kabara EC, Weber DJ, et al. High-performance neuroprosthetic control by an individual with tetraplegia. *Lancet*. 2013 Feb 16; 381 (9866): 557–64.

11. Nunez PL, Srinivasan R. Electric fields of the brain: the neurophysics of EEG. Oxford, UK: Oxford university press; 2006. 611 p.
12. Arai M, Nishinaka Y, Miki N. Long-term electroencephalogram measurement using polymer-based dry microneedle electrode. In: 2015 Transducers – 2015 18th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (TRANSDUCERS); 2015 June 21–25; Anchorage, AK. IEEE; 2015. p. 81–4.
13. Agashe H, Contreras-Vidal JL. Reconstructing hand kinematics during reach to grasp movements from electroencephalographic signals. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2011; 2011: 5444–7. doi: 10.1109/IEMBS.2011.6091389.
14. Mohamed AK, Marwala T, John LR. Single-trial EEG discrimination between wrist and finger movement imagery and execution in a sensorimotor BCI. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2011; 2011: 6289–93.
15. Yang J, Singh H, Hines EL, Schlaghecken F, Iliescu DD, Leesonc MS, Stocks NG. Channel selection and classification of electroencephalogram signals: an artificial neural network and genetic algorithm-based approach. *Artif Intell Med.* 2012; 55 (2):117–26.
16. Feldman Y, Ishai PB, Raicu V. Electrode polarization. Dielectric relaxation in biological systems: physical principles, methods, and applications. 2015 Jul 23: 140.
17. Allison BZ, Leeb R, Brunner C, Müller-Putz GR, Bauernfeind G, Kelly JW, Neuper C. Toward smarter BCIs: extending BCIs through hybridization and intelligent control. *J Neural Eng.* 2012 Feb; 9 (1): 013001.
18. Pfurtscheller G, Allison BZ, Brunner C, Bauernfeind G, Solis-Escalante T, Scherer R, et al. The hybrid BCI. *Front Neurosci.* 2010 Apr 21; 4: 30.
19. Leeb R, Sagha H, Chavarriga R, Mill J. Multimodal fusion of muscle and brain signals for a hybrid-BCI. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2010; 2010: 4343–6.
20. Xie P, Chen X, Ma P, Li X, Su P. Identification Method of Human Movement Intention based on the Fusion Feature of EEG and EMG. In: Proceedings of the World Congress on Engineering 2013, vol. 2; 2013 Jul 3–5; London, UK. IAENG; 2013.
21. Kiguchi K, Hayashi Y. A study of EMG and EEG during perception-assist with an upper-limb power-assist robot. In: 2012 IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA); 2012 May 14–18; Saint Paul, MN. IEEE; 2012. p. 2711–6.
22. Gopura RARC, Kiguchi K, Li Y. SUEFUL-7: A 7DOF upper-limb exoskeleton robot with muscle-model-oriented EMG-based control. In: 2009 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems; 2009 Oct 11–19; St. Louis, USA. IEEE; 2009. p. 1126–31.
23. Witkowski M, Cortese M, Cempini M, Mellinger J, Vitiello N, Soekadar SR. Enhancing brain-machine interface (BMI) control of a hand exoskeleton using electrooculography (EOG). *J Neuroeng Rehabil.* 2014 Dec 16; 11: 165.
24. Румянцева С. А., Ступин В. А., Оганов Р. Г., Силина Е. В., Петров В. А., Касымов В. А. и др. Пути развития систем длительного контроля артериального давления. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2015; (14) 1: 78–82.
25. Stupin VA, Silina EV, Oganov RG, Bogdanov YA, Shusharina NN. Development of an invasive device for long-term remote monitoring of cardiovascular system parameters, including blood pressure, in patients with comorbid conditions. *Biosciences Biotechnology Research Asia,* Aug 2015. Vol. 12(2), p. 1255-1263.
26. Silina EV., Stupin VA., Kolesnikova EA., Rumyantseva SA., Oganov RG. New devices for invasive blood pressure detection and the prototype for a long-term invasive distance control of cardiovascular system. *Biology and medicine.* 2014; 6 (3): BM-045-14, 5 p.
27. Pfurtscheller G, Leeb R, Slater M. Cardiac responses induced during thought-based control of a virtual environment. *Int J Psychophysiol.* 2006 Oct; 62 (1): 134–40.
28. Pfurtscheller G, Ortner R, Bauernfeind G, Linortner P, Neuper C. Does conscious intention to perform a motor act depend on slow cardiovascular rhythms? *Neurosci Lett.* 2010 Jan 1; 468 (1): 46–50.
29. Shahid S, Prasad G, Sinha RK. On fusion of heart and brain signals for hybrid BCI. In 2011 5th International IEEE/EMBS Conference Neural Engineering (NER); 2011 Apr 27 – May 11; Cancun, Mexico. IEEE; 2011. p. 48–52.
30. Judy JW. Neural interfaces for upper-limb prosthesis control: opportunities to improve long-term reliability. *IEEE Pulse.* 2012 Mar; 3 (2): 57–60.
31. Yanagisawa T, Hirata M, Saitoh Y, Goto T, Kishima H, Fukuma R, et al. Real-time control of a prosthetic hand using human electrocorticography signals: technical note. *J Neurosurg.* 2011 Jun; 114 (6): 1715–22.

References

1. Singh RM, Chatterji S, Kumar A. Trends and challenges in EMG based control scheme of exoskeleton robots — a review. *Int J Sci Eng Res.* 2012; 3 (9): 933–40.
2. Artemiadis P. EMG-based robot control interfaces: past, present and future. *Adv Robot Autom.* 2012, 1 (2): e107.
3. Li G. Electromyography pattern-recognition-based control of powered multifunctional upper-limb prostheses. In: Mizrahi J, editor. *Advances in applied electromyography.* InTech; 2011. 224 p.
4. Kim Y, Doh NL, Youm Y, Chung WK. Robust discrimination method of the electrooculogram signals for human-computer interaction controlling mobile robot. *Intell Autom Soft Comp.* 2007; 13 (3): 319–36.
5. Oonishi Y, Oh S, Hori Y. New control method for power-assisted wheelchair based on upper extremity movement using surface myoelectric signal. 2008 10th IEEE International Workshop on Advanced Motion Control. 2008; 498–503.
6. Gu Y, Dremstrup K, Farina D. Single-trial discrimination of type and speed of wrist movements from EEG recordings. *Clin Neurophysiol.* 2009 Aug; 120 (8): 1596–600.
7. Shenoy P, Miller KJ, Crawford B, Rao RP. Online electromyographic control of a robotic prosthesis. *IEEE Trans Biom Eng.* 2008 Mar; 55 (3): 1128–35.
8. Kiguchi K, Hayashi Y. An EMG-based control for an upper-limb power-assist exoskeleton robot. *IEEE Trans Syst Man Cybern B Cybern.* 2012 Aug; 42 (4): 1064–71.
9. Rosen J, Brand M, Fuchs MB, Arcan M. A myosignal-based powered exoskeleton system. *IEEE Trans Syst Man Cybern A Syst Hum.* 2001; 31 (3): 210–22.
10. Collinger JL, Wodlinger B, Downey JE, Wang W, Tyler-Kabara EC, Weber DJ, et al. High-performance neuroprosthetic control by an individual with tetraplegia. *Lancet.* 2013 Feb 16; 381 (9866): 557–64.
11. Nunez PL, Srinivasan R. Electric fields of the brain: the neurophysics of EEG. Oxford, UK: Oxford university press; 2006. 611 p.
12. Arai M, Nishinaka Y, Miki N. Long-term electroencephalogram measurement using polymer-based dry microneedle electrode. In: 2015 Transducers – 2015 18th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (TRANSDUCERS); 2015 June 21–25; Anchorage, AK. IEEE; 2015. p. 81–4.
13. Agashe H, Contreras-Vidal JL. Reconstructing hand kinematics during reach to grasp movements from electroencephalographic signals. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2011; 2011: 5444–7. doi: 10.1109/IEMBS.2011.6091389.
14. Mohamed AK, Marwala T, John LR. Single-trial EEG discrimination between wrist and finger movement imagery and execution in a sensorimotor BCI. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2011; 2011: 6289–93.
15. Yang J, Singh H, Hines EL, Schlaghecken F, Iliescu DD, Leesonc MS, Stocks NG. Channel selection and classification of electroencephalogram signals: an artificial neural network and genetic algorithm-based approach. *Artif Intell Med.* 2012; 55 (2):117–26.

16. Feldman Y, Ishai PB, Raicu V. Electrode polarization. Dielectric relaxation in biological systems: physical principles, methods, and applications. 2015 Jul 23: 140.
17. Allison BZ, Leeb R, Brunner C, Müller-Putz GR, Bauernfeind G, Kelly JW, Neuper C. Toward smarter BCIs: extending BCIs through hybridization and intelligent control. *J Neural Eng.* 2012 Feb; 9 (1): 013001.
18. Pfurtscheller G, Allison BZ, Brunner C, Bauernfeind G, Solis-Escalante T, Scherer R, et al. The hybrid BCI. *Front Neurosci.* 2010 Apr 21; 4: 30.
19. Leeb R, Sagha H, Chavarriaga R, Mill J. Multimodal fusion of muscle and brain signals for a hybrid-BCI. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2010; 2010: 4343–6.
20. Xie P, Chen X, Ma P, Li X, Su P. Identification Method of Human Movement Intention based on the Fusion Feature of EEG and EMG. In: *Proceedings of the World Congress on Engineering 2013, vol. 2; 2013 Jul 3–5; London, UK. IAENG; 2013.*
21. Kiguchi K, Hayashi Y. A study of EMG and EEG during perception-assist with an upper-limb power-assist robot. In: *2012 IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA); 2012 May 14–18; Saint Paul, MN. IEEE; 2012. p. 2711–6.*
22. Gopura RARC, Kiguchi K, Li Y. SUEFUL-7: A 7DOF upper-limb exoskeleton robot with muscle-model-oriented EMG-based control. In: *2009 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems; 2009 Oct 11–19; St. Louis, USA. IEEE; 2009. p. 1126–31.*
23. Witkowski M, Cortese M, Cempini M, Mellinger J, Vitiello N, Soekadar SR. Enhancing brain-machine interface (BMI) control of a hand exoskeleton using electrooculography (EOG). *J Neuroeng Rehabil.* 2014 Dec 16; 11: 165.
24. Rummyantseva SA, Stupin VA, Oganov RG, Silina EV, Petrov VA, Kasymov VA, et al. The ways of long-term blood pressure control systems development. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2015; (14) 1: 78–82.
25. Stupin VA, Silina EV, Oganov RG, Bogdanov YA, Shusharina NN. Development of an invasive device for long-term remote monitoring of cardiovascular system parameters, including blood pressure, in patients with comorbid conditions. *Biosciences Biotechnology Research Asia, Aug 2015. Vol. 12(2), p. 1255-1263.*
26. Silina EV., Stupin VA., Kolesnikova EA., Rummyantseva SA., Oganov RG. New devices for invasive blood pressure detection and the prototype for a long-term invasive distance control of cardiovascular system. *Biology and medicine.* 2014; 6 (3): BM-045-14, 5 p.
27. Pfurtscheller G, Leeb R, Slater M. Cardiac responses induced during thought-based control of a virtual environment. *Int J Psychophysiol.* 2006 Oct; 62 (1): 134–40.
28. Pfurtscheller G, Ortner R, Bauernfeind G, Linortner P, Neuper C. Does conscious intention to perform a motor act depend on slow cardiovascular rhythms? *Neurosci Lett.* 2010 Jan 1; 468 (1): 46–50.
29. Shahid S, Prasad G, Sinha RK. On fusion of heart and brain signals for hybrid BCI. In *2011 5th International IEEE/EMBS Conference Neural Engineering (NER); 2011 Apr 27 – May 11; Cancun, Mexico. IEEE; 2011. p. 48–52.*
30. Judy JW. Neural interfaces for upper-limb prosthesis control: opportunities to improve long-term reliability. *IEEE Pulse.* 2012 Mar; 3 (2): 57–60.
31. Yanagisawa T, Hirata M, Saitoh Y, Goto T, Kishima H, Fukuma R, et al. Real-time control of a prosthetic hand using human electrocorticography signals: technical note. *J Neurosurg.* 2011 Jun; 114 (6): 1715–22.

## УЛУЧШЕНИЕ РАБОТЫ ИНТЕРФЕЙСА ГЛАЗ–МОЗГ–КОМПЬЮТЕР ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЧАСТОТНЫХ КОМПОНЕНТОВ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММЫ

С. Л. Шишкин<sup>1</sup>✉, Б. Л. Козырский<sup>1,3</sup>, А. Г. Трофимов<sup>1,3</sup>, Ю. О. Нуждин<sup>1</sup>, А. А. Федорова<sup>1</sup>, Е. П. Свириной<sup>1</sup>, Б. М. Величковский<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Отдел нейрокогнитивных технологий, Курчатовский комплекс НБИКС-технологий, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

<sup>2</sup> Курчатовский комплекс НБИКС-технологий, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

<sup>3</sup> Факультет кибернетики и информационной безопасности, Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва

Интерфейсы глаз–мозг–компьютер (ИГМК) могли бы совместить в себе достоинства айтрекинговых систем управления техническими устройствами и интерфейсов мозг–компьютер. Такие системы предназначены как для пациентов с различными моторными нарушениями, так и здоровых людей. Эффективность ИГМК во многом определяется возможностью распознать намерение пользователя отдать команду по электроэнцефалограмме (ЭЭГ), регистрируемой во время фиксации взгляда, т. е. в течение всего сотен миллисекунд. Эти жесткие требования диктуют необходимость добиваться как можно более полного использования заключенной в ЭЭГ информации для повышения точности классификации фиксации взгляда на «управляющие» и спонтанные. В настоящей работе предприняли попытку использовать для классификации не только амплитудные статистические признаки, но также вейвлетные признаки, характеризующие осцилляторные компоненты ЭЭГ в интервале 50...500 мс относительно начала фиксации взгляда. Значения интегрального показателя точности классификации AUC при этом значимо выросли и составили 0,75 в среднем по группе из 8 человек. Предполагается, что дальнейшее совершенствование методики позволит превратить ИГМК в практически полезную технологию.

**Ключевые слова:** интерфейс мозг–компьютер, интерфейс глаз–мозг–компьютер, электроэнцефалограмма, ЭЭГ, управление с помощью взгляда, управляющая фиксация взгляда, айтрекинг, видеоокулография, классификация, вейвлеты

**Финансирование:** работа выполнена при частичной поддержке Российского научного фонда, грант № 14-28-00234 (получение экспериментальных данных и их предварительная обработка), и Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 15-29-01344 (оценка вклада вейвлетных признаков в классификацию).

✉ **Для корреспонденции:** Сергей Львович Шишкин  
123182, г. Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1; sergshishgkin@mail.ru

**Статья поступила:** 08.04.2016 **Статья принята к печати:** 15.04.2016

## IMPROVING EYE-BRAIN-COMPUTER INTERFACE PERFORMANCE BY USING ELECTROENCEPHALOGRAM FREQUENCY COMPONENTS

Shishkin SL<sup>1</sup>✉, Kozyrskiy BL<sup>1,3</sup>, Trofimov AG<sup>1,3</sup>, Nuzhdin YO<sup>1</sup>, Fedorova AA<sup>1</sup>, Svirin EP<sup>1</sup>, Velichkovsky BM<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Neurocognitive Technologies, Kurchatov Complex of NBICS Technologies, National Research Centre Kurchatov Institute, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Kurchatov Complex of NBICS Technologies, National Research Centre Kurchatov Institute, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Faculty of Cybernetics and Information Security, National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia

Eye-brain-computer interfaces (EBCIs) could combine the advantages of eye tracking systems used for operating technical devices and brain-computer interfaces. Such systems are intended for both patients with various motor impairments and healthy individuals. The effectiveness of EBCIs is largely dependent on their ability to detect the user's intent to give a command on the encephalogram (EEG) recorded during gaze fixation, that is, just within hundreds of milliseconds. These strict requirements necessitate a full use of data contained in EEG for more accurate classification of gaze fixations as spontaneous and "control". This work describes our attempt to use for classification not only amplitude statistical features, but also wavelet features specific to oscillatory EEG components within the interval of 50-500 ms from gaze fixation onset. Integral index of classification accuracy AUC significantly depended on the feature set, reaching the highest value (0.75, average over the group of 8 participants) for the combined amplitude and wavelet set. We believe that further improvement of this method will facilitate the practical application of EBCIs.

**Keywords:** brain-computer interface, eye-brain-computer interface, electroencephalogram, EEG, gaze-based control, control gaze fixation, eye tracking, video-oculography, classification, wavelets

**Funding:** this work was partially supported by the Russian Science Foundation, grant no. 14-28-00234 (acquisition and preprocessing of experimental data), and the Russian Foundation for Basic Research, grant no. 15-29-01344 (evaluation of wavelet features significance for classification).

✉ **Correspondence should be addressed:** Sergey Shishkin  
pl. Akademika Kurchatova, d. 1, Moscow, Russia, 123182; sergshishgkin@mail.ru

**Received:** 08.04.2016 **Accepted:** 15.04.2016

Интерфейсы мозг–компьютер (ИМК) — это аппаратно-программные комплексы, обеспечивающие возможность управления компьютером и подключенными к нему устройствами на основе распознавания паттернов активности мозга, ассоциированных с управляющими командами. Они разрабатываются, в первую очередь, в качестве средства помощи парализованным больным [1–3]. В то же время точность и скорость работы подавляющего большинства разновидностей ИМК остаются низкими, и неясно, удастся ли им найти практическое применение вне ряда задач, для решения которых достаточно отдавать простейшие команды, но «напрямую из мозга», что важно, например, в постинсультной реабилитации [4]. Удовлетворительной скорости печатания текста с помощью ИМК — около 50 букв в минуту (у здоровых испытуемых) — удалось достичь лишь в недавней работе [5], где использовалась ритмическая зрительная стимуляция, безопасность которой пока остается под вопросом.

Примечательно, что все неинвазивные ИМК с высокими точностно-скоростными характеристиками используют ЭЭГ-реакции на зрительные стимулы, на которые пользователь должен направлять взгляд. Это означает, что они могут применяться лишь при отсутствии серьезных нарушений зрения и глазодвигательной функции, т. е. когда пациент не теряет способность произвольно направлять взгляд в заданные области экрана, ассоциированные с управляющими командами (фиксировать взгляд на виртуальных «кнопках»). Но в этом случае можно обеспечить управление компьютерами и подключенными к ним устройствами на основе определения направления взгляда с помощью айтрекинга (видеоокулографии).

Существующие методики управления с помощью взгляда характеризуются сравнительно неплохими точностно-скоростными и эргономическими показателями при печатании текста [6]. Однако при попытках их применения к более широкому кругу задач исследователи сталкиваются с так называемой «проблемой прикосновения Мидаса» [7]. Подобно способности героя греческого мифа царя Мидаса прикосновением превращать предметы в золото, способность превращать фиксации взгляда или глазные жесты в команды техническим устройствам слишком избирательна и приводит к отдаче команд даже при отсутствии намерения их отдавать: перемещения взгляда являются важнейшим элементом зрительной функции, обычно происходят спонтанно и даже при концентрации внимания на них легко выходят из-под сознательного контроля. Существующие способы решения этой проблемы либо делают процесс управления медленным и утомительным, либо применимы лишь для ограниченного круга задач.

Еще в 1996 году было предложено решить проблему прикосновения Мидаса и создать высокоэффективный универсальный интерфейс путем комбинирования управления с помощью взгляда ("eye-mouse") и ИМК [8]. В течение ряда лет совмещение этих технологий [9] носило довольно механистический характер и не вело к созданию систем с быстрым откликом и хорошими эргономическими характеристиками. Перспективное решение задачи было предложено группой Торстена Цандера, вернувшейся к идее естественного соединения айтрекинга и ИМК [8] в рамках нового направления — разработки так называемых «пассивных ИМК». Так стали называть ИМК, откликающиеся на паттерны мозговой активности, не связанной с намеренными попытками подать команду через ИМК [10]. Цандер и коллеги показали, что фиксации взгляда, используемые для управления («управляющие» фиксации), можно отли-

чить от спонтанных (зрительных) фиксаций по электроэнцефалограмме (ЭЭГ), регистрируемой непосредственно во время фиксации, даже в случае, когда появление в ЭЭГ маркеров управления не вызывалось специально (испытуемым не давали дополнительных задач и не предъявляли стимулы в «управляющей» позиции) [11]. Однако в их исследованиях управление можно было осуществлять лишь с помощью длительной (1 000 мс) фиксации взгляда в единственной позиции экрана.

Нашей группой была разработана методика для интерфейса глаз–мозг–компьютер (ИГМК), позволившая классифицировать на основе ЭЭГ значительно более короткие фиксации — длительностью лишь 500 мс. В эксперименте испытуемые играли в компьютерную игру «Линии» и делали каждый ход с помощью фиксации на одном из 50 элементов игрового поля. Классификатор обучали отличать зарегистрированные во время этих фиксаций сигналы ЭЭГ от сигналов ЭЭГ, записанной во время фиксаций на тех же элементах, но при выключенном управлении, т. е. предположительно спонтанных фиксаций [12; Shishkin et al., in prep.]. Благодаря снижению длительности фиксаций управление для испытуемых было вполне естественным и комфортным, причем число и расположение чувствительных к управлению визуальных элементов в нашей методике ограничивается только возможностями айтрекера. Однако одни лишь амплитудные характеристики компонентов ЭЭГ, привязанные во времени к фиксациям (мы использовали их в первых исследованиях), не обеспечивают достаточной для практического применения технологии точности детекции управления.

В настоящем исследовании мы проанализировали возможность повышения точности классификатора ИГМК, автоматически отличающего управляющие фиксации взгляда от спонтанных, при дополнении амплитудных характеристик ЭЭГ характеристиками осцилляторных компонентов. В связи с необходимостью использовать короткие интервалы ЭЭГ, в пределах которых возможна зависимость от времени как амплитудных, так и частотных характеристик, а также в связи с высокой размерностью частотно-временных данных и другими существенными отличиями их от амплитудных данных, решение потребовало разработки специальной схемы выделения количественных признаков, характеризующих ЭЭГ во время фиксаций взгляда.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Эксперимент

Мы использовали записи ЭЭГ, полученные нами в ранее выполненном экспериментальном исследовании. Его основные результаты будут представлены в отдельной статье [Shishkin et al., in prep.], включая подробное описание методики эксперимента.

В исследовании, проводившимся с соблюдением норм Хельсинской декларации, приняли участие 8 условно здоровых испытуемых-добровольцев (7 мужчин, 1 женщина) в возрасте от 21 до 48 лет (средний возраст — 29 лет), давших информированное согласие. Взгляд испытуемых отслеживали с помощью айтрекера EyeLink 1000 Plus (SR Research, Канада). Фиксации взгляда детектировали в онлайн-режиме с помощью дисперсионного алгоритма. Параллельно регистрировали ЭЭГ в 19 отведениях (Fz, F3, F4, Cz, C3, C4, Pz, P1, P2, P3, P4, POz, PO3, PO4, PO7, PO8, Oz, O1, O2), а также электроокулограмму (ЭОГ) с помощью

электроэнцефалографа actiCHamp (BrainProducts, Германия). ЭОГ использовали для контроля артефактов в ЭЭГ. Регистрацию направления взгляда, ЭЭГ и ЭОГ вели с частотой 500 Гц.

В части алгоритмов управления с помощью взгляда и задачи, выполняемой испытуемыми, была полностью воспроизведена методика предварительного исследования, описанная нами в [12], поэтому здесь мы отметим лишь важные детали. Испытуемые играли в компьютерную игру «Линии» в специальной модификации, обеспечивающей выполнение всех действий в игре с помощью последовательностей из трех фиксаций взгляда, продолжительность каждой из которых превышала порог в 500 мс. Каждая из последовательностей начиналась с фиксации в отдельной расположенной области экрана, где после достижения порога появлялся специальный индикатор «включения управления». ЭЭГ, зарегистрированная во время этих фиксаций, составила первый класс данных (управляющие фиксации). Другой класс данных (контрольные фиксации) составила ЭЭГ, зарегистрированная также во время фиксаций с длительностью выше пороговой, но по правилам игры не приводивших к совершению хода. Управление компьютерной игрой на основе данных о фиксациях взгляда, а также синхронизация ЭЭГ/ЭОГ и запись времени фиксаций выполнялись с помощью оригинального программного обеспечения.

У каждого испытуемого было зарегистрировано в среднем 155 (от 120 до 184) управляющих и 159 (от 114 до 208) контрольных фиксаций.

### Подготовка признаков для классификатора

При выделении вейвлетных признаков из ЭЭГ использовали интервал 50...500 мс относительно начала фиксации, поскольку более ранний период содержал артефакты, связанные с перемещением взгляда, а более поздний не мог использоваться в онлайн-режиме для детекции намерения отдать команду. В анализируемом интервале практически полностью отсутствовали артефакты, поэтому мы не применяли никаких процедур для их коррекции или удаления. Ранее мы показали [12; Shishkin et al., in prep.], что существенное различие амплитуды ЭЭГ между управляющими и контрольными фиксациями в нашей методике характерно лишь для второй половины интервала фиксации, поэтому для получения амплитудных признаков в настоящей работе мы использовали интервал 200...500 мс.

Амплитудные признаки были получены путем усреднения значений амплитуды отдельно в каждом канале ЭЭГ в перекрывающихся окнах длиной 50 мс. Из этих значений для нивелирования влияния медленных колебаний и постоянной составляющей электрических потенциалов вычитали среднее в интервале 200...300 мс. Полученные «сырые» амплитудные признаки составляли единый вектор значений, описывающий пробу (trial), соответствующую одной фиксации.

Вейвлетные признаки были получены с помощью вейвлет-преобразования на основе вейвлета Морле. Диапазон масштабов соответствовал частотному диапазону 5...30 Гц. Чем большей частоте соответствовал масштаб, тем больше вейвлет-коэффициентов брали для описания каждой пробы. В процессе обучения на тренировочной выборке после получения частотно-временного описания каждой пробы с целью снижения «зашумления» данных irrelevantными признаками отбирали по 30 %

признаков (описываемых временем и масштабом), наиболее различившихся между спонтанными и управляющими фиксациями взгляда (имевших наиболее высокие значения коэффициента детерминации  $R^2$ ).

Отобранные признаки обрабатывали методом главных компонент (Principal Component Analysis, PCA). К амплитудным и вейвлетным признакам его применяли по отдельности. Отбирали по 80 компонент с наибольшей дисперсией (в случае использования и амплитудных, и вейвлетных признаков — по 80 компонент для каждого из них). Они составляли новые наборы признаков. Непосредственно перед использованием PCA и после него применяли один из двух способов нормализации (получения z-оценок) значений признаков: либо по всем значениям каждого признака (по всем пробам), либо в пределах отдельно взятых проб, но по всем признакам (отдельно для амплитудных и вейвлетных). Нормализация в пределах пробы рассматривалась как способ адаптации к локальному уровню значений признаков, который мог медленно варьировать во времени.

### Классификация управляющих и контрольных фиксаций по ЭЭГ

Для классификации использовался линейный дискриминантный анализ со «сжиманием» (shrinkage) регуляризацией, который обеспечивал эффективное обучение на небольших выборках (в том числе того размера, который был доступен в нашем исследовании) даже при сравнительно высокой размерности признаков и хорошо зарекомендовал себя в ИМК на основе потенциалов, связанных с событиями [13, 14].

Показатели качества классификации оценивали с помощью пятикратной кроссвалидации. При этом обучение классификатора, отбор признаков, расчет средних значений и стандартных отклонений признаков для нормализации (если она выполнялась по выборке), а также сжатие размерности проводили на части данных, служивших тренировочной выборкой. Полученные на этой выборке правила отбора признаков, среднее и стандартное отклонение для соответствующих наборов значений, а также матрица весов отобранных компонентов и веса обучающего классификатора применялись к оставшейся части данных, которые рассматривались как тестовая выборка. Такая организация кроссвалидации обеспечила воспроизведение реальной ситуации применения классификатора в ИМК.

Для оценки качества классификации мы использовали широко применяемый в аналогичных исследованиях интегральный показатель AUC (Area Under Curve — площадь под кривой, при этом имеется в виду кривая ROC — Receiver Operating Characteristic, рабочая характеристика приемника). Он показывает, насколько отличается от случайного результат классификации при различных значениях порога классификатора, которые могут выбираться для разделения классов с различным соотношением ошибок разного типа в зависимости от конкретных целей использования классификатора. Если результат классификации не отличается от случайного угадывания, значение этого показателя стремится к 0,5, а если классификатор никогда не ошибается, оно равно 1. Для сравнения значений AUC при использовании разных наборов признаков использовали многомерный дисперсионный анализ (MANOVA) и постхок-анализ по методу Бонферрони, реализованные в статистическом пакете Statistica 7.0 (StatSoft, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При использовании всех вариантов получения признаков индивидуальные значения показателя точности классификации (AUC) были выше 0,5, среднее по группе — не ниже 0,66, однако средние AUC довольно значительно различались (рис. 1).

Трехфакторный многомерный дисперсионный анализ (таблица; все три фактора были с повторными измерениями), примененный к индивидуальным значениям AUC, показал, что точность классификации значимо зависела от фактора набора признаков ( $\lambda = 0,06$ ,  $F(2,6) = 49$ ,  $p = 0,0002$ ), тогда как эффекты остальных факторов и взаимодействие факторов во всех комбинациях не были статистически значимыми. Постхок-анализ по методу Бонферрони показал, что значимым является различие между амплитудным и амплитудно-вейвлетным наборами признаков ( $p = 0,006$ ), но не между амплитудным и вейвлетным ( $p = 0,34$ ) и между вейвлетным и амплитудно-вейвлетным ( $p = 0,16$ ). Набор, состоявший только из амплитудных признаков, дал самую низкую точность классификации, а наилучшие результаты показал комбинированный набор (амплитудные и вейвлетные признаки, взятые вместе). При использовании ком-

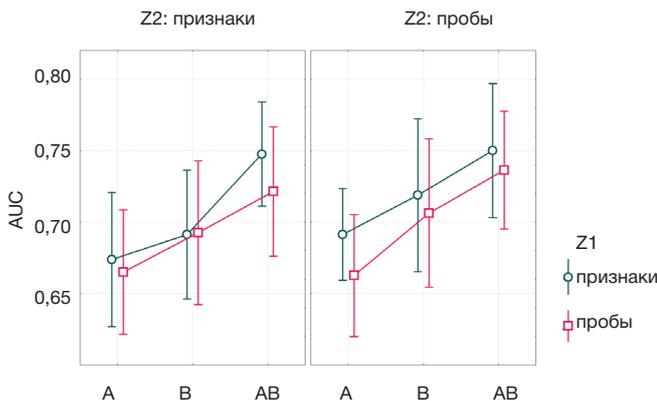


Рис. 1. Зависимость точности классификации фиксации взгляда на управляющие и спонтанные от способа выделения признаков из ЭЭГ, зарегистрированной во время фиксации (по показателю AUC)

**Обозначения:** А — только амплитудные признаки, В — только вейвлетные признаки, АВ — комбинированный (амплитудно-вейвлетный) набор признаков; Z1 — тип нормализации перед PCA; Z2 — тип нормализации после PCA; признаки — нормализация значений признаков, взятых по отдельности; пробы — нормализация значений в пределах одной пробы. Вертикальные линии соответствуют доверительным интервалам 95 %.

бинированного набора ЭЭГ-признаков среднее по группе значение AUC увеличилось на 0,05–0,08 (в зависимости от использовавшихся способов нормализации) по сравнению с амплитудным набором и составило  $0,75 \pm 0,04$  ( $M \pm SD$ ) при использовании нормализации признаков и перед, и после PCA и  $0,75 \pm 0,06$  при нормализации признаков перед PCA и в пределах проб после PCA.

На рис. 2 показаны индивидуальные результаты для способа подготовки признаков, давшего наиболее высокое значение AUC в среднем по группе. Индивидуальные кривые на графике позволяют оценить значения ошибок разного типа, которые наблюдались бы при разной величине порога классификатора. В частности, интерес представляет чувствительность классификатора ИГМК — частота правильно определенных управляющих фиксаций взгляда при низкой частоте ложных срабатываний. Как следует из рисунка, при фиксации частоты ложных срабатываний на уровне 0,1 (это можно сделать соответствующим подбором порога классификатора на отдельной выборке) лишь у одного испытуемого чувствительность оказалась ниже 0,2, еще у одного — выше 0,5, а у остальных находится в промежутке между этими значениями.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

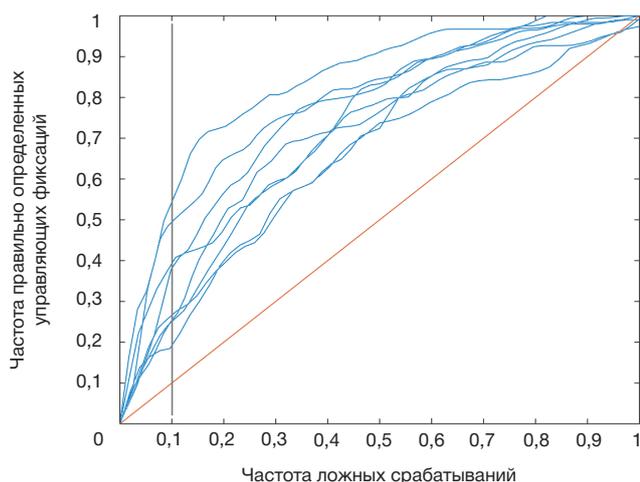
Для разработки ИГМК, распознающего сравнительно короткие управляющие фиксации взгляда по отрезкам ЭЭГ, регистрируемой непосредственно во время таких фиксаций, повышение эффективности работы классификатора имеет решающее значение, ведь для анализа доступны лишь единичные реализации сигнала длительностью всего сотни миллисекунд.

Отдельно стоит остановиться на качестве классификации при низком уровне ложных тревог. Дело в том, что в ИГМК несложно предусмотреть подстраховку на случай отсутствия распознавания управляющей фиксации: если интерфейс не срабатывает по достижении фиксацией порогового значения длительности (500 мс), пользователь может продолжить фиксировать управляющую позицию, и система сработает уже при достижении дополнительного порога (например, 1 000 мс) без использования классификатора ЭЭГ. Можно предположить, что при использовании ИГМК с такой подстраховкой в течение определенного времени мозг пользователя, заинтересованного в ускорении срабатывания интерфейса, сможет научиться выработать паттерн ЭЭГ, сопровождающий управляющие

Результаты анализа влияния способов подготовки признаков ЭЭГ на показатель точности классификации (AUC)

Факторы	$\lambda$ Уилкса	F	Степени свободы	p
			(эффект, ошибка)	
Z1 (тип нормализации перед PCA)	0,71	2,85	1, 7	0,1354
Z2 (тип нормализации после PCA)	0,67	3,43	1, 7	0,1064
<b>Набор признаков (А, В, АВ)</b>	<b>0,06</b>	<b>49,01</b>	<b>2, 6</b>	<b>0,0002</b>
Z1 × Z2	0,86	1,18	1, 7	0,3139
Z1 × признаки	0,48	3,26	2, 6	0,1101
Z2 × признаки	0,68	1,41	2, 6	0,3138
Z1 × Z2 × признаки	0,79	0,81	2, 6	0,4881

**Примечание.** С помощью многомерного дисперсионного анализа (MANOVA) анализировали зависимость AUC от фактора типа нормализации перед PCA (Z1), фактора типа нормализации после PCA (Z2), фактора набора признаков (амплитудный, вейвлетный, амплитудно-вейвлетный) и их взаимодействия (обозначено знаком ×). Жирным шрифтом выделен значимый эффект ( $p < 0,05$ ).



**Рис. 2.** ROC-кривые (кривые рабочей характеристики приемника) по всем испытуемым при использовании амплитудно-вейвлетного набора признаков, нормализации по признакам перед PCA и нормализации по пробам после PCA (способ подготовки признаков, обеспечивший наиболее высокое значение AUC в среднем по группе). Красная линия показывает уровень случайной классификации, серая вертикальная линия — пример высоких требований к специфичности классификатора (частота ложных срабатываний 0,1)

фиксации и обеспечивающий значительно более частое срабатывание классификатора. Однако для этого необходим хотя бы минимальный начальный уровень управления. Как видно из рис. 2, разработанная нами схема предобработки и выделения признаков уже позволила бы отдельным испытуемым приблизительно при половине управляющих фиксаций получать быстрое срабатывание интерфейса при сравнительно низкой частоте ложных тревог (0,1).

Если о природе амплитудных характеристик, полезных для классификации в нашем ИГМК, уже можно сделать предположение, что, по-видимому, они определяются прежде всего развитием негативного потенциала, связанным с ожиданием обратной связи при срабатывании

интерфейса [Shishkin et al., in prep.], то природа вейвлетных характеристик еще нуждается в объяснении. Следует отметить, что паттерны частотных компонентов ЭЭГ, характерные для различных состояний мозга, высокоиндивидуальны и их особенности лишь частично проявляются на групповом уровне. Тем не менее, они могут успешно классифицироваться при индивидуальном обучении классификатора, в том числе и в парадигме интерфейса мозг-компьютер [15–18]. Однако высокая размерность таких данных требует тщательного подхода к различным этапам анализа и отладки методики, по возможности с привлечением большого числа испытуемых. Нами в этом направлении сделаны лишь первые шаги, однако сходство результатов, полученных при использовании разных способов нормализации данных, может свидетельствовать о достаточно высокой об устойчивости и перспективности предложенной схемы предобработки данных и выделения информативных признаков.

## ВЫВОДЫ

В данной работе была впервые предпринята попытка применить для распознавания фиксаций взгляда, используемых для управления компьютером, времячастотное представление ЭЭГ, т. е. оценки выраженности частотных компонентов ЭЭГ в их зависимости от времени относительно начала фиксации. Использование этих признаков позволило получить точность классификации не хуже, чем на основе ранее уже использовавшихся нами амплитудных признаков. Более того, совместное использование тех и других признаков позволило повысить точность классификации. Мы полагаем, что дальнейшее совершенствование вычислительной методики позволит подойти непосредственно к практическому использованию интерфейса глаз-мозг-компьютер, сочетающего в себе основные достоинства обычных ИМК и систем управления на основе отслеживания взгляда.

## Литература

1. Wolpaw JR, Birbaumer N, McFarland DJ, Pfurtscheller G, Vaughan TM. Brain-computer interfaces for communication and control. *Clin Neurophysiol.* 2002; 113 (6): 767–791.
2. BNCI Horizon 2020. The Future of Brain/Neural Computer Interaction: Horizon 2020. Appendix C: End Users. 7th Framework Programme of the European Union. Доступно по ссылке: <http://bnci-horizon-2020.eu/roadmap>
3. Каплан А. Я., Кочетова А. Г., Шишкин С. Л., Басюл И. А., Ганин И. П., Васильев А. Н., Либуркина С. П. Экспериментально-теоретические основания и практические реализации технологии «интерфейс мозг-компьютер». *Бюллетень сибирской медицины.* 2013; 12 (2): 21–9.
4. Каплан А. Я. Нерофизиологические основания и практические реализации технологии мозг-машинных интерфейсов в неврологической реабилитации. *Физиология человека.* 2016; 42 (1): 118–27.
5. Chen X, Wang Y, Nakanishi M, Gao X, Jung TP, Gao S. High-speed spelling with a noninvasive brain-computer interface. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015; 112 (44): E6058–67.
6. Majaranta P. Text entry by eye gaze [диссертация]. Tampere, Finland: University of Tampere; 2009. Доступно по ссылке: <http://tampub.uta.fi/handle/10024/66483>.
7. Jacob RJK. The use of eye movements in human-computer interaction techniques: what you look at is what you get. *ACM Transactions on Information Systems.* 1991; 9 (2): 152–69.
8. Velichkovsky BM, Hansen JP. New technological windows into mind: there is more in eyes and brains for human-computer interaction. In: *Proceedings of the SIGCHI conference on Human factors in computing systems*; 1996 Apr 13–18; Vancouver, BC, Canada. New York: ACM; 1996. p. 496–503.
9. Pfurtscheller G, Allison BZ, Bauernfeind G, Brunner C, Escalante TS, Scherer R, et al. The hybrid BCI. *Front Neurosci.* 2010; 4: 42. Доступно по ссылке: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnpro.2010.00003/full>.
10. Zander TO, Kothe C. Towards passive brain-computer interfaces: applying brain-computer interface technology to human-machine systems in general. *J Neural Eng.* 2011; 8 (2): 025005.
11. Protzak J, Ihme K, Zander TO. A passive brain-computer interface for supporting gaze-based human-machine interaction. In: Stephanidis C, Antona M, editors. *Universal Access in Human-Computer Interaction. Design Methods, Tools, and Interaction Techniques for Inclusion.* Springer; 2013. p. 662–71.
12. Шишкин С. Л., Свириной Е. П., Нуждин Ю. О., Федорова А. А., Трофимов А. Г., Слободской-Плюснин Я. Ю. и др. Учитесь ждать! Условно-негативная волна поможет отдавать команды взглядом? В сборнике: Печенкова Е. В., Фаликман М. В., редакторы. *Когнитивная наука в Москве: новые исследования.* М.: БукиВеди; 2015. с. 486–91.
13. Blankertz B, Lemm S, Treder M, Haufe S, Müller KR. Single-trial analysis and classification of ERP components — a tutorial.

- NeuroImage. 2011; 56 (2): 814–25.
14. Schultze-Kraft M, Birman D, Rusconi M, Allefeld C, Gorgen K, Dahne S, et al. The point of no return in vetoing self-initiated movements. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016; 113 (4): 1080–5.
  15. Иваницкий Г. А. Распознавание типа решаемой в уме задачи по нескольким секундам ЭЭГ с помощью обучаемого классификатора. *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*. 1997; 47: 743–7.
  16. Dat TH, Shue L, Guan C. Electrographic signal classification based on time-frequency decomposition and nonparametric statistical modeling. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2006; 1: 2292–5. PMID: 17945704.
  17. Роик А. О., Иваницкий Г. А. Нейрофизиологическая модель когнитивного пространства. *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*. 2011; 60 (6): 688–96.
  18. Frolov A, Husek D, Bobrov P. Comparison of four classification methods for brain-computer interface. *Neural Network World*. 2011; 21 (2): 101–15.
  19. Frolov A, Husek D, Bobrov P, Mokienko O, Tintera J. Sources of electrical brain activity most relevant to performance of brain-computer interface based on motor imagery. In: Fazel-Rezai R, editor. *Brain-Computer Interface Systems: Recent Progress and Future Prospects*. InTech; 2013. p. 175–93.

## References

1. Wolpaw JR, Birbaumer N, McFarland DJ, Pfurtscheller G, Vaughan TM. Brain-computer interfaces for communication and control. *Clin Neurophysiol*. 2002; 113 (6): 767–791.
2. BNCI Horizon 2020. The Future of Brain/Neural Computer Interaction: Horizon 2020. Appendix C: End Users. 7th Framework Programme of the European Union. Available from: <http://bnci-horizon-2020.eu/roadmap>.
3. Kaplan AY, Kochetova AG, Shishkin SL, Basyul IA, Ganin IP, Vasilyev AN, Liburkina SP. Experimental and theoretical foundations and practical implementation of brain-computer interface technology. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2013; 12 (2): 21–9. Russian.
4. Kaplan AY. Neurophysiological foundations and practical realizations of the brain-machine interfaces in the technology in neurological rehabilitation. *Human Physiology*. 2016; 42 (1): 103–10. Russian.
5. Chen X, Wang Y, Nakanishi M, Gao X, Jung TP, Gao S. High-speed spelling with a noninvasive brain-computer interface. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015; 112 (44): E6058–67.
6. Majaranta P. Text entry by eye gaze [dissertation]. Tampere, Finland: University of Tampere; 2009. Available from: <http://tampub.uta.fi/handle/10024/66483>.
7. Jacob RJK. The use of eye movements in human-computer interaction techniques: what you look at is what you get. *ACM Transactions on Information Systems*. 1991; 9 (2): 152–69.
8. Velichkovsky BM, Hansen JP. New technological windows into mind: there is more in eyes and brains for human-computer interaction. In: *Proceedings of the SIGCHI conference on Human factors in computing systems*; 1996 Apr 13–18; Vancouver, BC, Canada. New York: ACM; 1996. p. 496–503.
9. Pfurtscheller G, Allison BZ, Bauernfeind G, Brunner C, Escalante TS, Scherer R, et al. The hybrid BCI. *Front Neurosci*. 2010; 4: 42. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnpro.2010.00003/full>.
10. Zander TO, Kothe C. Towards passive brain-computer interfaces: applying brain-computer interface technology to human-machine systems in general. *J Neural Eng*. 2011; 8 (2): 025005.
11. Protzak J, Ihme K, Zander TO. A passive brain-computer interface for supporting gaze-based human-machine interaction. In: Stephanidis C, Antona M, editors. *Universal Access in Human-Computer Interaction. Design Methods, Tools, and Interaction Techniques for eInclusion*. Springer; 2013. p. 662–71.
12. Shishkin SL, Svirin EP, Nuzhdin YO, Fedorova AA, Trofimov AG, Slobodskoy-Plusnin JY, et al. Learn waiting! Contingent negative variation may help you to control with your eye-gaze. In: Pechenkova EV, Falikman MV, editors. *Cognitive Science in Moscow: New Studies*. Ed. by E. V. Pechenkova, M. V. Falikman. M.: BukiVedi; 2015. p. 486–91. Russian.
13. Blankertz B, Lemm S, Treder M, Haufe S, Müller KR. Single-trial analysis and classification of ERP components — a tutorial. *NeuroImage*. 2011; 56 (2): 814–25.
14. Schultze-Kraft M, Birman D, Rusconi M, Allefeld C, Gorgen K, Dahne S, et al. The point of no return in vetoing self-initiated movements. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016; 113 (4): 1080–5.
15. Ivanitsky GA. Recognition of the task type in the process of its mental solving by a few-second EEG record using the learned classifier. *Zh Vyssh Nerv Deiat I P Pavlova*. 1997; 47: 743–7. Russian.
16. Dat TH, Shue L, Guan C. Electrographic signal classification based on time-frequency decomposition and nonparametric statistical modeling. In: *28th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*. 2006. P. 2292–5.
17. Roik AO, Ivanitskii GA. A neurophysiological model of the cognitive space. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2013; 43 (2): 193–9.
18. Frolov A, Husek D, Bobrov P. Comparison of four classification methods for brain-computer interface. *Neural Network World*. 2011; 21 (2): 101–15.
19. Frolov A, Husek D, Bobrov P, Mokienko O, Tintera J. Sources of electrical brain activity most relevant to performance of brain-computer interface based on motor imagery. In: Fazel-Rezai R, editor. *Brain-Computer Interface Systems: Recent Progress and Future Prospects*. InTech; 2013. p. 175–93.

## УСТОЙЧИВОСТЬ СПОНТАННОЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ *IN VITRO*

И. С. Соколов<sup>1,2✉</sup>, М. К. Татаринцев<sup>1,3</sup>, Р. Ю. Хасанов<sup>1,4</sup>, А. М. Азиева<sup>1</sup>, Е. Ю. Макаренко<sup>2</sup>, М. С. Бурцев<sup>1,3,5</sup>

<sup>1</sup> Отдел нейронаук, Курчатовский центр НБИКС-технологий, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

<sup>2</sup> Кафедра физиологии, медико-биологический факультет, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

<sup>3</sup> Кафедра НБИКС-технологий, факультет нано-, био-, информационных и когнитивных технологий, Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный

<sup>4</sup> Кафедра физиологии человека и животных, биологический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва

<sup>5</sup> Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва

С помощью нейро-компьютерных интерфейсов можно как считывать информацию с мозга, так и передавать ее в мозг. Однако эта информация — сигналы сенсорных систем, а не знание и опыт. Нейронные сети, представляющие собой основу когнитивной деятельности, способны *in vitro* воспроизводить процессы, аналогичные обучению. В работе проверена гипотеза о том, что нейронная сеть реализует обучение путем обнаружения отклонения от своей стереотипной активности и модификации ее таким образом, чтобы избавиться от внешней электрической стимуляции. Спонтанная активность нескольких нейрональных культур *in vitro* была проанализирована методом кластеризации. Результаты показали, что активность необученных культур остается стабильной на протяжении длительного времени, а внешняя электрическая стимуляция приводит к переключению между паттернами спонтанной активности.

**Ключевые слова:** нейрональные культуры, нейронные сети, обучение, спонтанная активность, кластерный анализ, анализ пачечной активности

**Финансирование:** работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 15-11-30014.

✉ **Для корреспонденции:** Илья Сергеевич Соколов  
117534, г. Москва, ул. Чертановская д. 49, к. 2, кв. 121; [ilersokolov@gmail.com](mailto:ilersokolov@gmail.com)

**Статья поступила:** 01.04.2016 **Статья принята к печати:** 07.04.2016

## STABILITY OF SPONTANEOUS ELECTRICAL ACTIVITY OF NEURAL NETWORKS *IN VITRO*

Sokolov IS<sup>1,2✉</sup>, M Tatarintsev MK<sup>1,3</sup>, Khasanov RY<sup>1,4</sup>, Azieva AM<sup>1</sup>, Makarenko EYu<sup>2</sup>, Burtsev MS<sup>1,3,5</sup>

<sup>1</sup> Department of Neurosciences, Kurchatov Complex of NBICS Technologies, National Research Centre Kurchatov Institute, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Department of Physiology, Biomedical Faculty, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Department of NBIC Technologies, Faculty of Nano-, Bio-, Information and Cognitive Technologies, Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Dolgoprudny, Russia

<sup>4</sup> Department of Human and Animal Physiology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>5</sup> National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia

Using brain-computer interfaces, one can both read data from and transmit them to the brain. However, these data are only a set of sensor system signals and not the knowledge or experience. Neural networks are a basis for cognitive activity and can simulate processes similar to learning *in vitro*. In this work we tested the hypothesis of a neural network's ability to learn by detecting deviations from its stereotypical activity and modifying them in a way that allows it to get rid of external electrical stimulation. Spontaneous activity of several neuronal cultures *in vitro* was analyzed by clustering method. The results showed that activity of untrained cultures remained stable for a long time, and external electrical stimulation led to switching between various spontaneous activity patterns.

**Keywords:** neuronal cultures, neural networks, learning, spontaneous activity, cluster analysis, bursting activity analysis

**Funding:** this work was supported by the Russian Science Foundation, grant no. 15-11-30014.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ilya Sokolov  
ul. Chertanovskaya, d. 49, k. 2, kv. 121, Moscow, Russia, 117534; [ilersokolov@gmail.com](mailto:ilersokolov@gmail.com)

**Received:** 01.04.2016 **Accepted:** 07.04.2016

Нейро-компьютерные интерфейсы используют в медицине для создания нейропротезов, сопоставимых по отзывчивости на ментальные команды пользователя со здоровыми органами тела [1–3]. Возможна передача информации и в обратном направлении, от компьютера к мозгу: с помощью электрической стимуляции восстанавливают утраченные сенсорные функции, например слуховую [4] или зрительную [5]. Однако интересной исследовательской задачей является передача информации как таковой — знаний и опыта. Было показано, что использование нелинейной динамической модели с множественными входами/выходами позволяет осуществлять «передачу» определенного пространственно-временного паттерна, зарегистрированного в гиппокампе одной крысы, в гиппокамп другой, что приводит к достоверному изменению поведения второго животного [6].

Известно, что нейронные сети, составляющие основу когнитивной деятельности, не имеют четкой локализации в структурах головного мозга, а распределены в них [7, 8]. В связи с этим возникает потребность в перепрограммировании нейронных сетей. Опубликованные работы, посвященные изучению характера спонтанной активности в нейросетях *in vitro* и возможностям ее внешней модификации [9–13], свидетельствуют о способности сетей первичных диссоциированных культур нейронов из области коры и гиппокампа на мультиэлектродных матрицах (multielectrode array, MEA) управлять отключением внешней стимуляции посредством изменения своей активности на выбранном экспериментатором электроде. Впервые такое обучение нейрональной культуры было продемонстрировано Shahaf и Marom [14], а затем успешно воспроизведено другими исследователями [15–18].

По мере формирования сети из диссоциированной культуры нейронов возникает спонтанная биоэлектрическая активность, регистрируемая электродами матрицы. Так, в первые дни развития культуры в условиях отсутствия внешней стимуляции регистрируются только отдельные потенциалы действия, но с течением времени они группируются, образуя пачки [19]. В настоящей работе мы предположили, что спонтанная пачечная активность должна сводиться к небольшому числу стереотипных паттернов и применение кластерного анализа позволит идентифицировать один или несколько доминантных. Поскольку внешняя стимуляция нарушает сложившуюся последовательность активаций, сеть изменит активность, чтобы отключить стимуляцию и вернуться к типичному паттерну. Тогда кластерный анализ после стимуляции (обучения) должен будет выявить возвращение исходного типа активности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Клеточные культуры

Первичную культуру готовили из тканей гиппокампа новорожденных мышей линии C57BL/6. Основные правила содержания и ухода за экспериментальными животными соответствовали нормативам, данным в Приказе Минздрава России № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики в Российской Федерации». Эксперимент был одобрен постановлением локального этического комитета по вопросам биомедицинских исследований Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (протокол № 1 от 09.07.2015).

Клетки культивировали на 60-канальных мультиэлектродных матрицах 60StimMEA200/30-ITO (Multichannel

Systems, Германия). Предварительно дно чашек обрабатывали поли-L-лизинном для лучшей адгезии клеток. Исходная плотность культуры составила 300 000 клеток/мм<sup>2</sup>. Их диссоциирование достигалось путем обработки 0,25 % трипсином (Invitrogen 25200-056, США). Поддержание жизнеспособности нейронов осуществляли в культуральной нейробазальной среде NeurobasalTM (Invitrogen 21103-049) в комплексе с биоактивной добавкой B27 (Invitrogen 17504-044), глутамином (Invitrogen 25030-024) и пенициллин-стрептомицином (Life Technologies 15140122, США) в инкубаторе GALAXY 170S (New Brunswick Scientific, США) при постоянных условиях: температуре 37 °C, 100 % влажности и содержании 5 % CO<sub>2</sub> в воздухе. Развитие глии не подавляли, поскольку глиальные клетки были необходимы для длительного сохранения жизнеспособности культуры в условиях *in vitro*. Половину объема среды меняли на новую каждые три дня.

Биоэлектрическую активность клеток регистрировали с помощью установки MEA1060-Up-BC-Standard (Multichannel Systems). Для получения данных использовали программное обеспечение, поставляемое производителем с установкой.

Для регистрации динамики спонтанной пачечной активности использовали две культуры. Регистрацию осуществляли с 4-го дня жизни (*day in vitro*, DIV) до гибели культур. Для дальнейшей обработки использовали данные с момента появления спонтанной пачечной активности до ее прекращения. Для обучения использовали одну культуру в возрасте 24 DIV.

### Протокол обучения нейрональной культуры *in vitro*

1) Фоновая регистрация биоэлектрической активности культуры в течение 1 ч.

2) Стимуляция одиночными импульсами биполярной прямоугольной формы амплитудой от –300 до 300 мВ отдельно по каждому электроду для выбора электрода, вызвавшего наиболее интенсивный ответ культуры.

3) 5 циклов стимуляции по выбранному в п. 2 электроду. Каждый цикл состоит из пятиминутной серии прямоугольных импульсов с двухминутными перерывами. Задержка между импульсами в серии подбирается для каждого эксперимента таким образом, чтобы каждый импульс вызывал популяционную пачку активности. По результатам стимуляции выбирается регистрирующий электрод, для которого электрическая активность в течение 30–80 мс после подачи стимула была наименьшей.

4) Регистрация спонтанной биоэлектрической активности культуры в течение 1 ч.

5) 20 циклов обучения. Критерием успешности обучения является увеличение в два раза вероятности зарегистрировать спайковую активность на заданном временном интервале на выбранном в п. 3 электроду. Обучение заключается в стимуляции в соответствии с п. 3, но с условием, что при достижении критерия успешности обучения стимуляция прекращается и дается двухминутный отдых.

6) Регистрация спонтанной биоэлектрической активности культуры в течение 1 ч.

### Детекция спайков и пачечных событий

Исходный сигнал подвергали цифровой обработке высокочастотным фильтром Баттерворта 2-го порядка с полкой пропускания сигнала от 200 Гц, что позволяло исключить низкочастотные помехи. Присутствие потенциала

действия детектировали, если амплитуда сигнала превышала 4 стандартных отклонения. В этом случае находили максимум амплитуды, что и считали временем возникновения спайка.

Пачечное событие (пачка) возникает на одном электроде, и характеризуется взрывной генерацией импульсов в течение непродолжительного времени (0,1–3,0 с в зависимости от возраста культуры и плотности ее посадки) и обычно сопровождается низкочастотной (1–5 Гц) компонентой сигнала. Детекцию пачек осуществляли путем выявления низкочастотной компоненты в заданном окне и детекции спайков в окрестностях этой компоненты. Началом и концом пачки считали время возникновения первого и последнего спайка соответственно.

Популяционными пачечными событиями называют пачки, которые наблюдаются синхронно (с небольшими задержками — порядка 0,002–0,05 с) более чем на половине всех активных электродов. Началом популяционной пачки считается время возникновения первого пачечного события.

### Анализ паттернов

В качестве вектора признаков пачечного события  $V_k$  использовали фронт активации пачек (activation pattern) [10]. Размерность вектора  $V_k$  равна количеству активных электродов (т. е. электродов, на которых наблюдалась хотя бы одна пачка):

$$V_k = \{t_k(i) - t_{start}^k\}_{i=0}^N = (c_{k0} \dots c_{kN}), \quad (1)$$

где  $t_k(i)$  — начало активности на  $i$ -том электроде,  $t_{start}^k$  — время начала популяционного пачечного события. Если при данной пачке на электроде не было зафиксировано активности, но при других пачках она присутствовала, то

соответствующая компонента вектора принимает среднее значение остальных компонент вектора.

В качестве метрики использовали коэффициент корреляции Пирсона, а метода кластеризации — метод взвешенного попарного среднего [20].

Для получения кластеров необходимо в упорядоченной последовательности векторов признаков найти расстояния между соседними векторами, после чего на основании полученных расстояний определить пороговое значение  $th$ . Соседние векторы, расстояния между которыми меньше порогового, образуют кластеры.

Пороговое значение  $th$ , определяли следующим образом. Строили график зависимости максимальной удаленности кластеров  $D$  от числа кластеров  $n$  в порядке возрастания. Тогда

$$th = D(\operatorname{argmax}(\frac{d^2 D}{dn^2}) + 2),$$

где  $\operatorname{argmax}$  — функция, вычисляющая максимальное значение.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Кластерный анализ спонтанной пачечной активности нейронов двух культур в возрасте 10...30 DIV (рис. 1) показал, что в обоих случаях более чем 50 % фронтов активации пачек принадлежали к одному доминирующему кластеру (№ 7 на рис. 1, А и № 5 на рис. 1, В). Большинство прочих популяционных пачек (40 %) распределились по двум равным по размеру кластерам (№ 6 и 9 на рис. 1, А и № 4 и 6 на рис. 1, В). Доминирующие паттерны пачечной активности нейронов были стабильны, несмотря на внешние воздействия на культуру, связанные со сменой среды и перемещением культуры из инкубатора к регистрирующей установке и обратно.

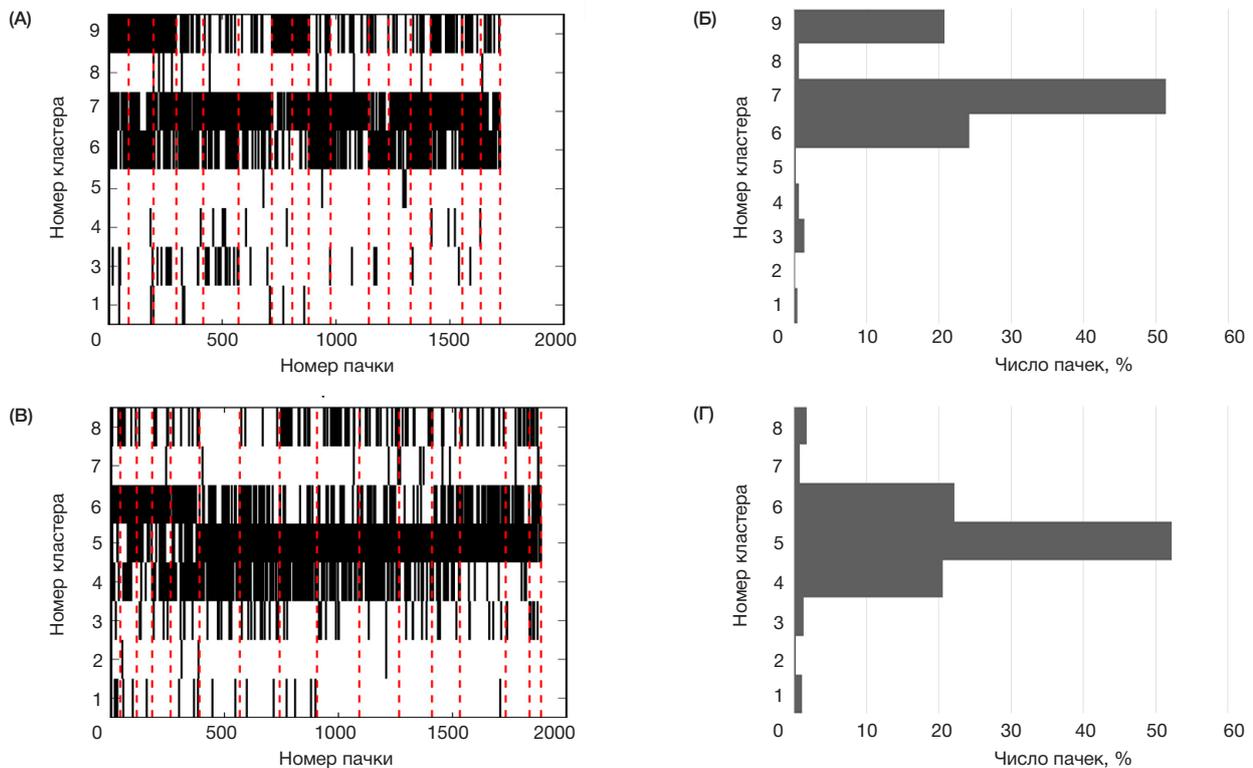


Рис. 1. Кластеризация динамики спонтанной пачечной активности для двух нейрональных культур *in vitro* с идентификаторами 3035 (А) и 3040 (В) и процентное соотношение числа пачек в кластерах с идентификаторами 3035 (С) и 3040 (Д). Пачки представлены в порядке появления. Красными пунктирными линиями отделены дни развития культуры

В эксперименте по обучению нейрональной сети для стимуляции (п. 2 протокола обучения) был выбран 22-й электрод, а для прекращения стимуляции (п. 3 протокола обучения) — 12-й. Условием завершения стимуляции являлось обнаружение 5 и более спайков в окне 50-80 мс после стимулирующего импульса.

Результаты кластерного анализа спонтанной пачечной активности, зарегистрированной на этапах 1, 4 и 6 протокола обучения, приведены на рисунке 2. Перед стимуляцией (этап 1) популяционные пачки формировали два больших кластера № 15 и 18. После стимуляции без обратной связи (этап 4) число пачек, соответствовавших кластерам № 15 и 18, уменьшилось, а кластерам № 2 и 4 — увеличилось. После стимуляции с обратной связью (этап 6) число пачек в доминирующих кластерах № 15 и 18 осталось на промежуточном уровне, а остальная часть активности переклонируется из кластеров № 2 и 4 в кластер № 3.

Доминирующая спонтанная пачечная активность до стимуляции и таковая после стимуляции имели различные паттерны активаций (рис. 3). Кластеры № 3 и 4 были схожи между собой, но отличались от кластеров № 15 и 18, которые в значительной степени перекрывались. Кластер № 2 сочетал в себе черты тех и других.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Согласно нашей гипотезе, спонтанная пачечная активность нейронных сетей *in vitro* должна характеризоваться самоорганизацией и повторением паттернов активности. Наш эксперимент и результаты других исследователей [13, 21, 22] подтверждают, что самоорганизация нейронов при созревании культуры приводит к появлению

ограниченного числа динамических режимов, каждый из которых представлен своим собственным типом активности — аттрактором. Таким образом, нейроны *in vitro* способны производить и поддерживать некоторую последовательность активаций, что необходимо для сохранения памятного следа.

Второе предположение высказанной гипотезы — устойчивость паттернов спонтанной пачечной активности к внешним воздействиям, в том числе внешней электрической стимуляции. Наши результаты показывают, что состав паттернов не зависит от наличия обратной связи при стимуляции и изменяется только частота их встречаемости. Это позволяет предположить, что обучение в живых нейронных сетях является результатом генерации вариаций существующих паттернов с последующим выбором подходящего шаблона для решения «проблемы». Так, в протоколе, использованном нами в исследовании, «проблема» была определена с помощью внешней стимуляции, которую можно отключить, предоставив «решение».

## ВЫВОДЫ

Исследование спонтанной пачечной активности нейронных сетей *in vitro* показало, что динамика активности сети сводится к небольшому числу аттракторов. Изменение пачечной активности при внешней стимуляции показало, что доминирующий аттрактор спонтанной активности не разрушается, однако увеличивается разнообразие паттернов. Можно предположить, что обучение осуществляется в основном через переключение между существующими динамическими аттракторами нейрональной активности.

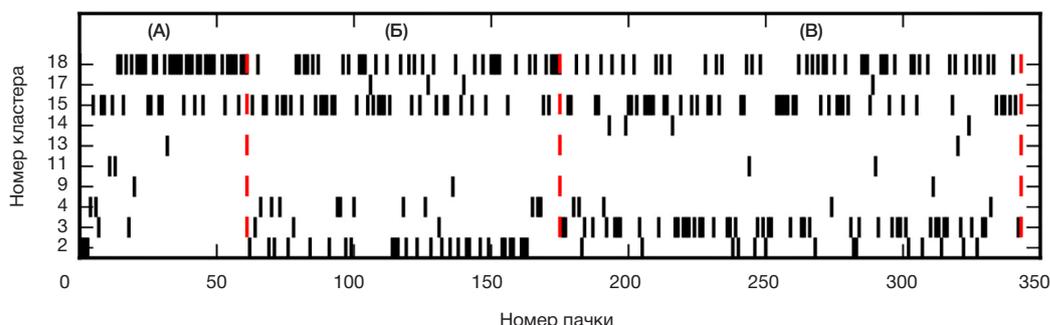


Рис. 2. Переключения паттернов активности после стимуляции без обратной связи и с обратной связью. (А) До стимуляции. (Б) После стимуляции без обратной связи. (В) После стимуляции с обратной связью

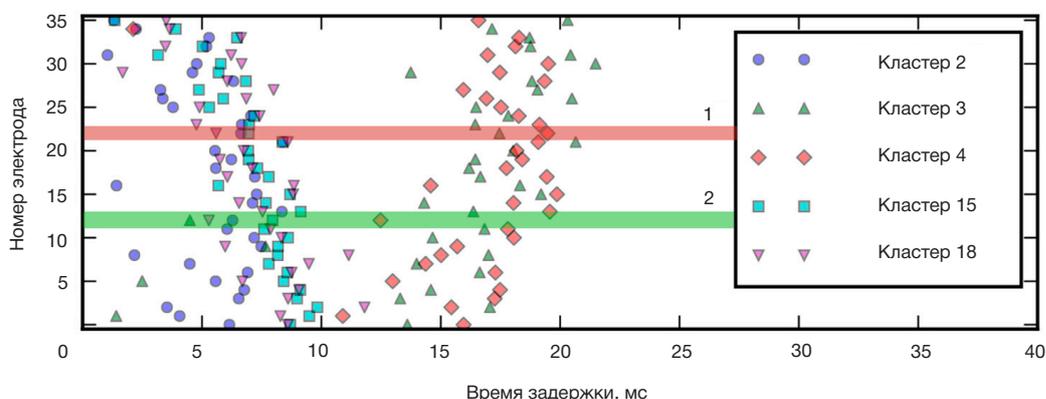


Рис. 3. Усредненные векторы признаков пачек для кластеров, содержащих не менее 5 % всех событий, показанных на рис. 2. Зеленой линией (1) отмечен электрод № 12, по которому культуру обучали, красной (2) — электрод № 22, по которому осуществляли стимуляцию

Литература

- Velliste M, Perel S, Spalding MC, Whitford AS, Schwartz AB. Cortical control of a prosthetic arm for self-feeding. *Nature*. 2008 Jun 19; 453 (7198): 1098–101.
- Wessberg J, Stambaugh CR, Kralik JD, Beck PD, Laubach M, Chapin JK, et al. Real-time prediction of hand trajectory by ensembles of cortical neurons in primates. *Nature*. 2000 Nov 16; 408 (6810): 361–5.
- Serruya MD, Hatsopoulos NG, Paninski L, Fellows MR, Donoghue JP. Instant neural control of a movement signal. *Nature*. 2002 Mar 14; 416 (6877): 141–2.
- Shannon RV. Advances in auditory prostheses. *Curr Opin Neurol*. 2012 Feb; 25 (1): 61–6.
- Fernandes RA, Diniz B, Ribeiro R, Humayun M. Artificial vision through neuronal stimulation. *Neurosci Lett*. 2012 Jun 25; 519 (2): 122–8.
- Hampson RE, Song D, Chan RH, Sweatt AJ, Riley MR, Gerhardt GA, et al. A nonlinear model for hippocampal cognitive prosthesis: memory facilitation by hippocampal ensemble stimulation. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng*. 2012 Mar; 20 (2): 184–97.
- Josselyn SA, Kohler S, Frankland PW. Finding the engram. *Nat Rev Neurosci*. 2015 Sep; 16 (9): 521–34.
- Quiroga RQ, Mukamel R, Isham EA, Malach R, Fried I. Human single-neuron responses at the threshold of conscious recognition. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Mar 4; 105 (9): 3599–604.
- Kermany E, Gal A, Lyakhov V, Meir R, Marom S, Eytan D. Tradeoffs and constraints on neural representation in networks of cortical neurons. *J Neurosci*. 2010 Jul 14; 30 (28): 9588–96.
- Raichman N, Ben-Jacob E. Identifying repeating motifs in the activation of synchronized bursts in cultured neuronal networks. *J Neurosci Methods*. 2008 May 15; 170 (1): 96–110.
- Shahaf G, Eytan D, Gal A, Kermany E, Lyakhov V, Zrenner C, et al. Order-based representation in random networks of cortical neurons. *PLoS Comput Biol*. 2008 Nov; 4 (11): e1000228.
- Xydas D, Downes JH, Spencer MC, Hammond MW, Nasuto SJ, Whalley BJ, et al. Revealing ensemble state transition patterns in multi-electrode neuronal recordings using hidden Markov models. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng*. 2011 Aug; 19 (4): 345–55.
- Pimashkin A, Kastalskiy I, Simonov A, Koryagina E, Mukhina I, Kazantsev V. Spiking signatures of spontaneous activity bursts in hippocampal cultures. *Front Comput Neurosci*. 2011; 5: 46.
- Shahaf G, Marom S. Learning in networks of cortical neurons. *J Neurosci*. 2001 Nov 15; 21 (22): 8782–8.
- Marom S, Shahaf G. Development, learning and memory in large random networks of cortical neurons: lessons beyond anatomy. *Q Rev Biophys*. 2002 Feb; 35 (1): 63–87.
- Li Y, Zhou W, Li X, Zeng S, Luo Q. Dynamics of learning in cultured neuronal networks with antagonists of glutamate receptors. *Biophys J*. 2007 Dec 15; 93 (12): 4151–8.
- Stegenga J, Le Feber J, Marani E, Rutten WL. The effect of learning on bursting. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2009 Apr; 56 (4): 1220–7.
- le Feber J, Stegenga J, Rutten WL. The effect of slow electrical stimuli to achieve learning in cultured networks of rat cortical neurons. *PloS One*. 2010; 5 (1): e8871.
- Wagenaar DA, Pine J, Potter SM. An extremely rich repertoire of bursting patterns during the development of cortical cultures. *BMC Neurosci*. 2006; 7: 11.
- Sokal R, Michener C. A statistical method for evaluating systematic relationships. *University of Kansas Science Bulletin*. 1958; 38 (22): 1409–38.
- Лебедев П. Д., Бурцев М. С. Кластеризация пачек спонтанной активности нейрональной культуры. В сборнике: Сборник научных трудов Всероссийской научно-технической конференции «Нейроинформатика 2010» в 2-х частях. ч. 1. М.: НИЯУ МИФИ; 2010. с. 296–303.
- Burtsev MS, Lebedev RD. Evolution of bursts onsets during the development of cortical cultures. *FENS Abstr*, vol. 5, 130.12, 2010.

References

- Velliste M, Perel S, Spalding MC, Whitford AS, Schwartz AB. Cortical control of a prosthetic arm for self-feeding. *Nature*. 2008 Jun 19; 453 (7198): 1098–101.
- Wessberg J, Stambaugh CR, Kralik JD, Beck PD, Laubach M, Chapin JK, et al. Real-time prediction of hand trajectory by ensembles of cortical neurons in primates. *Nature*. 2000 Nov 16; 408 (6810): 361–5.
- Serruya MD, Hatsopoulos NG, Paninski L, Fellows MR, Donoghue JP. Instant neural control of a movement signal. *Nature*. 2002 Mar 14; 416 (6877): 141–2.
- Shannon RV. Advances in auditory prostheses. *Curr Opin Neurol*. 2012 Feb; 25 (1): 61–6.
- Fernandes RA, Diniz B, Ribeiro R, Humayun M. Artificial vision through neuronal stimulation. *Neurosci Lett*. 2012 Jun 25; 519 (2): 122–8.
- Hampson RE, Song D, Chan RH, Sweatt AJ, Riley MR, Gerhardt GA, et al. A nonlinear model for hippocampal cognitive prosthesis: memory facilitation by hippocampal ensemble stimulation. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng*. 2012 Mar; 20 (2): 184–97.
- Josselyn SA, Kohler S, Frankland PW. Finding the engram. *Nat Rev Neurosci*. 2015 Sep; 16 (9): 521–34.
- Quiroga RQ, Mukamel R, Isham EA, Malach R, Fried I. Human single-neuron responses at the threshold of conscious recognition. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Mar 4; 105 (9): 3599–604.
- Kermany E, Gal A, Lyakhov V, Meir R, Marom S, Eytan D. Tradeoffs and constraints on neural representation in networks of cortical neurons. *J Neurosci*. 2010 Jul 14; 30 (28): 9588–96.
- Raichman N, Ben-Jacob E. Identifying repeating motifs in the activation of synchronized bursts in cultured neuronal networks. *J Neurosci Methods*. 2008 May 15; 170 (1): 96–110.
- Shahaf G, Eytan D, Gal A, Kermany E, Lyakhov V, Zrenner C, et al. Order-based representation in random networks of cortical neurons. *PLoS Comput Biol*. 2008 Nov; 4 (11): e1000228.
- Xydas D, Downes JH, Spencer MC, Hammond MW, Nasuto SJ, Whalley BJ, et al. Revealing ensemble state transition patterns in multi-electrode neuronal recordings using hidden Markov models. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng*. 2011 Aug; 19 (4): 345–55.
- Pimashkin A, Kastalskiy I, Simonov A, Koryagina E, Mukhina I, Kazantsev V. Spiking signatures of spontaneous activity bursts in hippocampal cultures. *Front Comput Neurosci*. 2011; 5: 46.
- Shahaf G, Marom S. Learning in networks of cortical neurons. *J Neurosci*. 2001 Nov 15; 21 (22): 8782–8.
- Marom S, Shahaf G. Development, learning and memory in large random networks of cortical neurons: lessons beyond anatomy. *Q Rev Biophys*. 2002 Feb; 35 (1): 63–87.
- Li Y, Zhou W, Li X, Zeng S, Luo Q. Dynamics of learning in cultured neuronal networks with antagonists of glutamate receptors. *Biophys J*. 2007 Dec 15; 93 (12): 4151–8.
- Stegenga J, Le Feber J, Marani E, Rutten WL. The effect of learning on bursting. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2009 Apr; 56 (4): 1220–7.
- le Feber J, Stegenga J, Rutten WL. The effect of slow electrical stimuli to achieve learning in cultured networks of rat cortical neurons. *PloS One*. 2010; 5 (1): e8871.
- Wagenaar DA, Pine J, Potter SM. An extremely rich repertoire of bursting patterns during the development of cortical cultures. *BMC Neurosci*. 2006; 7: 11.
- Sokal R, Michener C. A statistical method for evaluating systematic relationships. *University of Kansas Science Bulletin*. 1958; 38 (22): 1409–38.
- Lebedev RD, Burtsev MS. Klasterizatsiya pachek spontannoy aktivnosti neyronal'noy kul'tury. In: Sbornik nauchnykh trudov Vserossiyskoy nauchno-tekhnicheskoy konferentsii «Neyroinformatika 2010» v 2-kh chastyakh. P. 1. Moscow: MEPhI; 2010. p. 296–303. Russian
- Burtsev MS, Lebedev RD. Evolution of bursts onsets during the development of cortical cultures. *FENS Abstr*, vol. 5, 130.12, 2010.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ГЛАДКОСТИ АБЛЯЦИОННОЙ ПОВЕРХНОСТИ И ТЕРМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В РОГОВИЦЕ КРОЛИКА ПРИ РАБОТЕ ЭКСИМЕРЛАЗЕРНЫХ УСТАНОВОК «МИКРОСКАН-ВИЗУМ» И «МИКРОСКАН-ЦФП»

Г. Ф. Качалина, Н. Х. Тахчиди ✉

Научно-клинический отдел офтальмологии,  
Научно-клинический центр оториноларингологии, Москва

Эксимерные лазеры используют в офтальмологии для лечения различных аномалий рефракции. Качество работы эксимерлазерной установки можно оценить по нескольким критериям: гладкости формируемой ею абляционной поверхности роговицы, соответствию диаметра полученной оптической зоны полной коррекции диаметру расчетной оптической зоны и нагреву роговицы в процессе операции. В статье представлены результаты оценки трех российских эксимерлазерных установок: «МикроСкан-ЦФП 100 Гц», «МикроСкан-Визум 300 Гц» и «МикроСкан-Визум 500 Гц» («Оптосистемы»). Гладкость абляционной поверхности, которую формировали десятикратно для каждого лазера на пластинах полиметилметакрилата, имитируя операцию коррекции миопии в 3,0 дптр и задавая диаметр оптической зоны в 6 мм и диаметр переходной зоны — в 2,3 мм для «МикроСкан-ЦФП 100 Гц» и в 1,9 мм для «МикроСкан-Визум 300 Гц» и «МикроСкан-Визум 500 Гц», измеряли с помощью интерферометра New View – 5000 Zygo (Zygo Corporation, США). Термические процессы в роговице изучали на 15 кроликах породы шиншилла серая в возрасте старше одного года и живой массой 2–3 кг. Каждым лазером проводили фототерапевтическую кератэктомию на 5 глазах. Установка «МикроСкан-Визум 500 Гц» формировала наиболее гладкие абляционные поверхности. Нагрев роговицы при ее использовании был наибольшим (+ 3,95 °С к концу операции), но находился в пределах значений, допустимых для современных лазеров сканирующего типа.

**Ключевые слова:** эксимерлазерная установка, МикроСкан-ЦФП 100 Гц, МикроСкан-Визум 300 Гц, МикроСкан-Визум 500 Гц, абляция, роговица, аномалия рефракции

✉ Для корреспонденции: Ника Христовна Тахчиди  
123182, г. Москва, Волоколамское шоссе, д. 30, стр. 2; nika-th@ya.ru

Статья поступила: 11.04.2016 Принята к печати: 14.04.2016

## STUDY OF ABLATED SURFACE SMOOTHNESS AND THERMAL PROCESSES IN RABBIT CORNEA TREATED WITH MICROSCAN-VISUM AND MICROSCAN-PIC EXCIMER LASER SYSTEMS

Kachalina GF, Takhchidi NCh ✉

Department for Clinical Research in Ophthalmology,  
Clinical Research Center for Otorhinolaryngology, Moscow, Russia

In ophthalmology, excimer lasers are used for treating different refractive disorders. The performance of an excimer laser station can be assessed by a number of criteria, such as cornea surface smoothness after the ablation, differences between the diameter of the postoperative optical zone that received full correction and the diameter of the programmed optical zone, and cornea heating during the surgery. The article presents the results of the assessment of three Russian excimer laser systems: MicroScan-PIC 100 Hz, MicroScan-Visum 300 Hz and MicroScan-Visum 500 Hz (Optosystems Ltd.). The smoothness of the ablated surface was measured by New View – 5000 Zygo interferometer (Zygo Corporation, USA). Using PMMA plates, the ablated surface was formed tenfold with each laser as an imitation of the 3.0 D myopia surgical correction, with the optical zone diameter of 6 mm and the transition zone diameters of 2.3 mm for MicroScan-PIC 100 Hz and of 1.9 mm for MicroScan-Visum 300 Hz and MicroScan-Visum 500 Hz. Thermal processes in the cornea were studied in 15 grey chinchillas over 1 year old with a weight of 2-3 kg. With each of the laser systems, phototherapeutic keratectomy was performed on 5 eyes. The smoothest ablated surfaces were formed by MicroScan-Visum 500 Hz. Cornea temperature was the highest here (+ 3.95 °C by the end of treatment), but still within the range of values acceptable for modern scanning type lasers.

**Keywords:** excimer laser system, MicroScan-PIC 100 Hz, MicroScan-Visum 300 Hz, MicroScan-Visum 500 Hz, ablation, cornea, error of refraction

✉ Correspondence should be addressed: Nika Takhchidi  
Volokolamskoe shosse, d. 30, str. 2, Moscow, Russia, 123182; nika-th@ya.ru

Received: 11.04.2016 Accepted: 14.04.2016

По данным Всемирной организации здравоохранения, в последние десятилетия наблюдается устойчивая тенденция увеличения числа людей с аномалиями рефракции. Распространенность миопии и миопического астигматизма в России, США и странах Европейского Союза среди лиц трудоспособного возраста составляет, по данным различных авторов, от 27 до 45 % [1]. Вместе с тем отмечается совершенствование как традиционных (очковой и контактной коррекции), так и хирургических методов коррекции аномалий рефракции. Особенно динамично развиваются технологии кераторефракционной хирургии с использованием различных лазеров [2–4].

За последние годы офтальмологами разных стран был накоплен большой клинический опыт в использовании эксимерного лазера для коррекции аномалий рефракции [3, 5–11]. В России также ведутся работы по созданию и внедрению в клиническую практику эксимерлазерных установок. С конца 1980-х гг. их созданием и внедрением в клиническую практику занимаются в Межотраслевом научно-техническом комплексе «Микрохирургия глаза» совместно с Центром физического приборостроения Института общей физики РАН и ООО «Оптосистемы». В 2000 г. была представлена эксимерлазерная установка «МикроСкан-ЦФП», позволяющая выполнять наряду с операциями по стандартным технологиям LASIK (лазерный кератомилез) и TransPRK (транспрелиальная фоторефракционная кератэктомия) персонализированные операции на основе данных кератотопографии и aberromетрии глаза. Анализ клинико-функциональных результатов таких операций показал их высокую предсказуемость, стабильность и безопасность [12].

Для объективной оценки качества работы эксимерлазерных систем используют несколько критериев. Один из них — гладкость роговичной поверхности, формируемой излучением эксимерного лазера. Более гладкая роговичная поверхность способствует нормальному протеканию процесса эпителизации роговицы после операции и минимизирует вероятность развития фиброплазии [13]. Количественную характеристику гладкости позволяет получить измерение с помощью интерферометрических микроскопов Zygo (Zygo Corporation, США). Рядом исследователей было показано, что гладкость поверхности выше у лазеров сканирующего типа с технологией «летающего пятна» в сравнении с полноапертурными лазерами и лазерами, использующими сканирующую щель и диафрагмирующие системы формирования абляции [14, 15].

Другим важным критерием является соответствие диаметра полученной оптической зоны полной коррекции диаметру расчетной оптической зоны, указанному фирмой-производителем в программе расчета операций лазерной установки. По данным O'Donnell и соавт. [15], диаметр зоны абляции, получаемый при проведении операции эксимерным лазером, использующим диафрагмирующие формирующие системы, как правило, меньше указанного фирмой-производителем. По мнению исследователей, чем больше оптическая и переходная зоны воздействия, тем лучше функциональный результат и меньше вероятность послеоперационной регрессии эффекта. Меньшая оптическая зона может вызывать весьма неприятные ощущения у пациентов при пониженной освещенности или засвете [16].

Еще одним важным показателем качества эксимерного лазера является отсутствие значительного повышения температуры роговицы в процессе операции. Несмотря на то, что эксимерные лазеры называют «холодными»,

под их воздействием разрушаются молекулярные связи в клетках и выделяется энергия, повышающая температуру роговицы [17, 18]. Оно не может вызвать денатурацию коллагена, но может повлиять на активность кератоцитов, послеоперационное заживление и развитие фиброплазии. Сканирующие лазеры с технологией «летающего пятна» позволяют значительно снизить возможный нагрев роговицы за счет малого диаметра луча и алгоритма сканирования, при котором аблируются локальные участки роговичной ткани, находящиеся на удалении друг от друга, поэтому она не успевает существенно повысить свою температуру [19, 20].

Безусловно, основным показателем качества эксимерлазерной установки является ее эффективность в клинической практике, однако по приведенным выше критериям можно определить технические возможности и перспективы использования прибора еще на этапе доклинического исследования.

На базе установки «МикроСкан-ЦФП» разработали прибор следующего поколения — «МикроСкан-Визум» в вариантах с частотой сканирования 300 и 500 Гц. Целью нашего исследования являлась оценка гладкости абляционной поверхности, формируемой на полимерных материалах, и исследование термических процессов в роговице кролика при проведении фототерапевтической кератэктомии (ФТК) с помощью изучаемых установок.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент по оценке гладкости абляционной поверхности провели с использованием пластин из полиметилметакрилата (ПММА). В управляющем компьютере каждой из трех изучаемых эксимерлазерных установок — «МикроСкан-ЦФП 100 Гц», «МикроСкан-Визум 300 Гц» и «МикроСкан-Визум 500 Гц» — задали операцию коррекции миопии в 3,0 дптр с диаметром оптической зоны 6 мм и диаметром переходной зоны в 2,3 мм — для «МикроСкан-ЦФП 100 Гц» и 1,9 мм — для «МикроСкан-Визум 300 Гц» и «МикроСкан-Визум 500 Гц» (это было обусловлено различным диаметром пятна эксимерлазерного излучения — 1,15 и 0,95 мм соответственно). На пластинках формировали по 10 линз каждым из лазеров, затем все линзы измеряли с помощью интерференционного микроскопа New View — 5000 Zygo. Определяли следующие показатели, характеризующие качество поверхности формируемой линзы:

RMS — среднеквадратичное отклонение точек поверхности относительно средней высоты по всей изучаемой области;

PV — расстояние между высшей и низшей точками исследуемой области;

Ra — среднее отклонение точек поверхности от срединной поверхности.

При этом гладкость поверхности считалась тем лучше, чем меньше было значение перечисленных показателей.

Термографическое исследование по изучению изменения температуры роговицы провели на 15 кроликах породы шиншилла серый старше одного года и живой массой 2–3 кг. Эксперимент был одобрен Межвузовским Комитетом по этике (протокол № 10–12 от 18.10.2012). На каждой из трех установок прооперировали по 5 глаз (по одному глазу на животное). За 15 мин до операции кролику вводили 2 мл раствора реланиума. Операцию проводили под местной анестезией (трехкратная инстилляцией 1 % раствора инокаина). Расчетная глубина абляции в процессе ФТК составила 52 мкм.

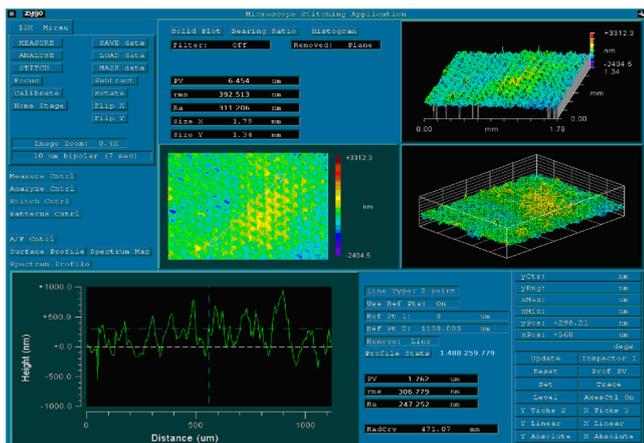


Рис. 1. Пример измерений интерферометром New View – 5000 Zygo (Ra = 311 нм) гладкости абляционной поверхности, сформированной на пластинах из ПММА с помощью установки «МикроСкан-ЦФП 100 Гц»

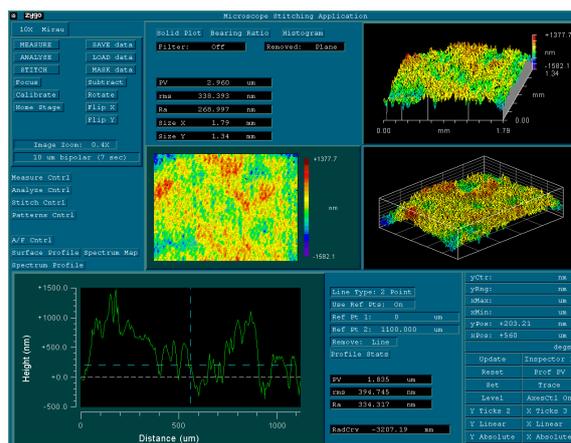


Рис. 2. Пример измерений интерферометром New View – 5000 Zygo (Ra = 268 нм) гладкости абляционной поверхности, сформированной на пластинах из ПММА с помощью установки «МикроСкан-Визум 500 Гц»

Для измерения температуры роговицы использовали тепловизионный комплекс Thermo View Ti30 (Raytek, USA). Съёмку проводили в помещении с температурой окружающей среды 16,7 °С с расстояния 60–70 см с частотой 1 Гц и точностью до 0,1 °С. На персональном компьютере данные тепловизора преобразовывали в термографическую карту с помощью программного обеспечения, поставляемого с прибором, и определяли максимальную и минимальную температуру роговицы на протяжении операции. Коэффициент излучения роговицы установили равным 0,93 (как у воды), т. е. считали, что в прибор поступает 0,93 от полного излучения роговицы и прибор добавляет 0,07 при расчете температуры. Например, если при  $k = 0,93$  температура равна 37,3 °С, то при  $k = 1$  для той же термограммы температура будет равна 36,1 °С.

Статистическую обработку данных провели с помощью компьютерных программ Statistica 6.0 (StatSoft, США) и Excel 2003. Использовали методы вариационной статистики. Результаты представили в виде среднего арифметического  $M$  (mean) и стандартного отклонения  $\sigma$  (standard deviation). Для сравнения средних и оценки достоверности различий использовали  $t$ -критерий Стьюдента для независимых случаев ( $p = 0,05$ ).

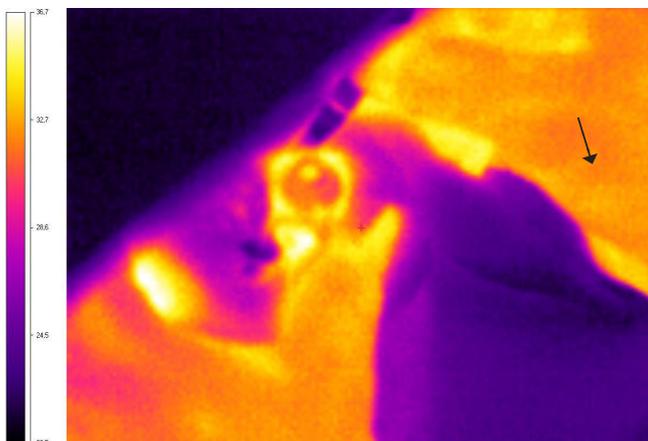


Рис. 3. Пример термографической карты при проведении фототерапевтической кератэктомии с помощью установки «МикроСкан-ЦФП 100 Гц» (роговица кролика отмечена стрелкой)

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты сравнительного анализа качества абляционной поверхности линз представлены в табл. 1. Наилучшая гладкость была достигнута на установке «МикроСкан-Визум 500 Гц». На рис. 1 и 2 показаны примеры измерений для установок «МикроСкан-ЦФП 100 Гц» и «МикроСкан-Визум 500 Гц».

Пример термографической карты, полученной в процессе эксимерлазерной абляции на установке «МикроСкан-ЦФП 100 Гц» представлен на рис. 3, а результаты измерения поперечного профиля температуры для всех изучаемых установок — на рис. 4.

Для установки «МикроСкан-ЦФП 100 Гц» средняя температура роговицы до начала лазерного воздействия составила  $31,04 \pm 0,63$  °С, максимальная температура в конце операции —  $32,21 \pm 0,68$  °С, а изменение температуры —  $1,17 \pm 0,05$  °С (табл. 2). Для установок «МикроСкан-Визум 300 Гц» и «МикроСкан-Визум 500 Гц» эти показатели составили  $31,82 \pm 0,87$ ,  $33,24 \pm 1,21$  и  $1,42 \pm 0,34$  °С и  $31,02 \pm 0,47$ ,  $34,97 \pm 1,36$  и  $3,95 \pm 0,89$  °С соответственно.

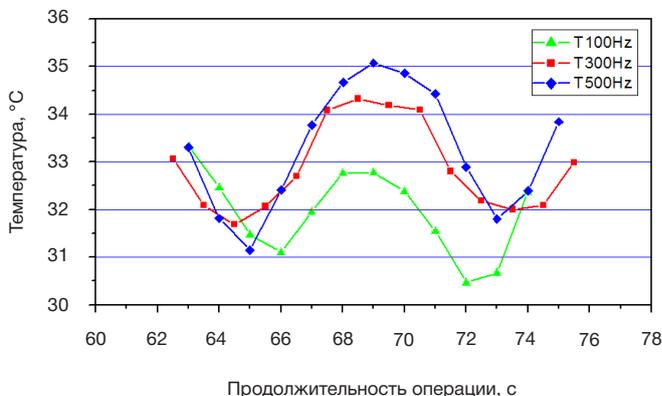


Рис. 4. Поперечные профили температуры для эксимерлазерных установок «МикроСкан-ЦФП 100 Гц» (зеленая кривая), «МикроСкан-Визум 300 Гц» (красная кривая) и «МикроСкан-Визум 500 Гц» (синяя кривая)

**Таблица 1.** Показатели качества абляционной поверхности линз, сформированных на пластинах из полиметилметакрилата излучением установок «МикроСкан-ЦФП 100 Гц», «МикроСкан-Визум 300 Гц» и «МикроСкан-Визум 500 Гц», нм ( $M \pm \delta$ ,  $p < 0,05$ )

Установка	RMS	PV	Ra
«МикроСкан-ЦФП 100 Гц»	392 ± 75	6454 ± 1752	311 ± 68
«МикроСкан-Визум 300 Гц»	351 ± 35	2754 ± 298	282 ± 25
«МикроСкан-Визум 500 Гц»	338 ± 25	2960 ± 51	268 ± 20

**Таблица 2.** Динамика термических процессов в роговице кролика при проведении фототерапевтической кератэктомии с помощью установок «МикроСкан-ЦФП 100 Гц», «МикроСкан-Визум 300 Гц» и «МикроСкан-Визум 500 Гц», °C ( $M \pm \delta$ ,  $p < 0,05$ )

Установка	Исходная t роговицы	Максимальная t роговицы в конце операции	Увеличение t
«МикроСкан-ЦФП 100 Гц»	31,04 ± 0,63	32,21 ± 0,68	1,17 ± 0,05
«МикроСкан-Визум 300 Гц»	31,82 ± 0,87	33,24 ± 1,21	1,42 ± 0,34
«МикроСкан-Визум 500 Гц»	31,02 ± 0,47	34,97 ± 1,36	3,95 ± 0,89

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Установка «МикроСкан-Визум 500 Гц» формировала наиболее гладкие абляционные поверхности, а нагрев роговицы при ее использовании хотя и был наибольшим (+ 3,95 °C к концу операции), но находился в допустимых пределах. Например, при проведении операции по технологии LASIK при лечении миопии высокой степени Sph -9,25D с помощью популярного лазера Schwind AMARIS 500 Hz (SCHWIND eye-tech-solutions, Германия) температура роговицы увеличивается на 3,73 °C [21].

## Литература

1. Либман Е. С., Шахова Е. В. Слепота, слабовидение и инвалидность по зрению в российской федерации. В сборнике: Ликвидация устранимой слепоты: Всемирная инициатива ВОЗ: Материалы Российской государственной межрегиональной конференции. М.: ИПО «Полигран»; 1993. 120 с.
2. Балашевич Л. И. Техника эксимерлазерной кератэктомии. Рефракционная хирургия. 2002; 93-4.
3. Федоров С. Н., Семенов А. Д., Харизов А. А. и др. Опыт использования эксимерного лазера в рефракционной хирургии близорукости. В сборнике: Тезисы докладов Международного симпозиума по рефракционной хирургии, имплантации ИОЛ; 1991; Москва. с. 12.
4. Алисов И. А. Эксимерный лазер «Профиль-500» в коррекции сложного миопического астигматизма [диссертация]. Москва; 2002.
5. Качалина Г. Ф. Хирургическая технология трансэпителиальной фоторефрактивной кератэктомии при миопии на эксимерлазерной установке «Профиль-500» [диссертация]. Москва: Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза»; 2000.
6. Кишкин Ю. И. Эксимерный лазер в коррекции остаточной близорукости после радиальной кератотомии [диссертация]. Москва: Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза»; 1998.
7. Куренков В. В. Фоторефракционная кератэктомия и интрастромальная кератэктомия: Руководство по эксимерлазерной хирургии роговицы. М.: Издательство РАМН; 2002. с. 197-200.
8. Тарутта Е. П., Смирнова Т. С., Ходжабеян Н. В. Двухлетний опыт ФПК с помощью эксимерного лазера MEL-60. В сборнике: Материалы VII Съезда офтальмологов России; 16-20 мая 2000 г.; Москва. с. 298-9.
9. Esquenazi S, Mendoza A. Two-year follow-up of LASIK for hyperopia. J Refract Surg. 1999; 15 (6): 648-52.
10. Knorz M, Wiesinger B, Liermann A, Seiberth, Liesenhoff H. Laser in situ keratomileusis for moderate and high myopia and myopic

## ВЫВОДЫ

Все три изучаемые установки позволяют формировать абляционную поверхность высокого качества, но наилучший результат был получен для установки «МикроСкан-Визум 500 Гц». Нагрев роговицы при проведении фототерапевтической кератэктомии на кроликах для этой установки был наибольшим, но не превышал допустимые значения. По результатам исследования установка «МикроСкан-Визум 500 Гц» была рекомендована к проведению клинических исследований.

11. astigmatism. Ophthalmology. 1998; 105 (5): 932-40.
12. Дюга А. В. Эксимерлазерная рефракционная микрохирургия роговицы на базе сканирующей установки «Микроскан» [диссертация]. Москва: Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза»; 2004.
13. Liang FQ, Geasey SD, del Cerro M, Aquavella JV. A new procedure for evaluating smoothness of corneal surface following 193-nm excimer laser ablation. Corneal Surg. 1992; 8 (6): 459-65.
14. Argento C, Valenzuela G, Huck H, Cremona G, Cosentino MJ, Gale MF. Smoothness of ablation on acrylic by four different excimer lasers. J Refract Surg. 2001; 17 (1): 43-5.
15. O'Donnell F., Tang F., Han X., Chen D., Hwang M. PRK ablation zone anatomy. In: Book of abstract American Society of Cataract and Refractive Surgery Meeting; 1995 Apr 1-5; San Diego, USA.
16. O'Brart D, Corbett M, Verma S, et al. An investigation to determine the effects of ablation diameter, depth and profile on the outcome of excimer laser photorefractive keratectomy Invest. Ophthalmol Vis Sci. 1995; 36 (Suppl): S1063.
17. Bende T, Seiler T, Wollensak J. Side effects in excimer corneal surgery: corneal thermal gradients. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 1988; 226 (3): 277-80.
18. Berns MW, Liaw LH, Oliva A, Andrews JJ, Rasmussen RE, Kimel S. An acute light and electron microscopic study of ultraviolet 193-nm excimer laser corneal incisions. Ophthalmology. 1988; 95 (10): 1422-33.
19. Корниловский И. М., Дорри А. М., Павленко В. В. Изменения температуры роговицы при ФПК и локальной гипотермии. В сборнике: Материалы IV международной конференции «Клинические результаты применения эксимерного лазера EC-5000 (NIDEK)». 1999; Москва. с. 8.
20. Chatterjee A, Shah S, Bonshek R, et al. Relationship of histological change to corneal temperature change following PRK. J Refract Corneal Surg. 1997; 13 (Suppl): S462-3.
21. Schwind Press Release. Thermodynamic measurements confirm high safety of the SCHWIND AMARIS' intelligent thermal effect contro. Kleinostheim, Germany; 2010 Apr. Доступно по ссылке: <http://www.eye-tech-solutions.com/en/home/information-centre/press-centre>.

## References

1. Libman ES, Shakhova EV. Slepota, slabovidenie i invalidnost' po zreniyu v rossiyskoy federatsii. In: Likvidatsiya ustranimoy slepoty: Vsemirnaya initsiativa VOZ: Materialy Rossiyskogo mezhdunarodnogo simpoziuma; 2013 Apr 22–; Ufa, Russia. p. 38–42.
2. Avetisov SE, Mamikonyan VR. Keratorefraktsionnaya khirurgiya. Moscow: IPO "Poligran"; 1993. 120 p.
3. Balashevich LI. Tekhnika eksimerlazernoy keratektomii. Refraktsionnaya khirurgiya. 2002; 93–4.
4. Fedorov SN, Semenov AD, Kharizov AA, et al. Opyt ispol'zovaniya eksimernogo lazera v refraktsionnoy khirurgii blizorukosti. In: Tezisy dokladov Mezhdunarodnogo simpoziuma po refraktsionnoy khirurgii, implantatsii IOL; 1991; Moscow. p. 12.
5. Alisov IA. Eksimernyy lazer "Profil'-500" v korrektsii slozhnogo miopicheskogo astigmatizma [dissertation]. Moscow; 2002.
6. Kachalina GF. Khirurgicheskaya tekhnologiya transepitelial'noy fotorefraktivnoy keratektomii pri miopii na eksimerlazernoy ustanovke "Profil'-500" [dissertation]. Moscow: IRTC Eye Microsurgery; 2000.
7. Kishkin Yul. Eksimernyy lazer v korrektsii ostatochnoy blizorukosti posle radial'noy keratotomii [dissertation]. Moscow: IRTC Eye Microsurgery; 1998.
8. Kurenkov VV. Fotorefraktsionnaya keratektomiya i intrastromal'naya keratektomiya: Rukovodstvo po eksimerlazernoy khirurgii rogovitsy. Moscow: Izdatel'stvo RAMN; 2002. p. 197–200.
9. Tarutta EP, Smirnova TS, Khodzhabekeyan NV. Dvukhletniy opyt FRK s pomoshch'yu eksimernogo lazera MEL-60. In: Materialy VII S'ezda oftal'mologov Rossii; 2000 May 16–20; Moscow. p. 298–9.
10. Esquenazi S, Mendoza A. Two-year follow-up of LASIK for hyperopia. J Refract Surg. 1999; 15 (6): 648–52.
11. Knorz M, Wiesinger B, Liermann A, Seiberth, Liesenhoff H. Laser in situ keratomileusis for moderate and high myopia and myopic astigmatism. Ophthalmology. 1998; 105 (5): 932–40.
12. Doga AV. Eksimerlazernaya refraktsionnaya mikrokhirurgiya rogovitsy na baze skaniruyushchey ustanovki «Mikroskan» [dissertation]. Moscow: IRTC Eye Microsurgery; 2004.
13. Liang FQ, Geasey SD, del Cerro M, Aquavella JV. A new procedure for evaluating smoothness of corneal surface following 193-nm excimer laser ablation. Corneal Surg. 1992; 8 (6): 459–65.
14. Argento C, Valenzuela G, Huck H, Cremona G, Cosentino MJ, Gale MF. Smoothness of ablation on acrylic by four different excimer lasers. J Refract Surg. 2001; 17 (1): 43–5.
15. O'Donnel F, Tang F., Han X., Chen D., Hwang M. PRK ablation zone anatomy. In: Book of abstract American Society of Cataract and Refractive Surgery Meeting; 1995 Apr 1–5; San Diego, USA.
16. O'Brart D, Corbett M, Verma S, et al. An investigation to determine the effects of ablation diameter, depth and profile on the outcome of excimer laser photorefractive keratectomy Invest. Ophthalmol Vis Sci. 1995; 36 (Suppl): S1063.
17. Bende T, Seiler T, Wollensak J. Side effects in excimer corneal surgery: corneal thermal gradients. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 1988; 226 (3): 277–80.
18. Berns MW, Liaw LH, Oliva A, Andrews JJ, Rasmussen RE, Kimel S. An acute light and electron microscopic study of ultraviolet 193-nm excimer laser corneal incisions. Ophthalmology. 1988; 95 (10): 1422–33.
19. Kornilovskiy IM, Dorri AM, Pavlenko VV. Izmeneniya temperatury rogovitsy pri FRK i lokal'noy gipotermii. In: Materialy IV mezhdunarodnoy konferentsii «Klinicheskie rezul'taty primeneniya eksimernogo lazera EC-5000 (NIDEK)». 1999; Moscow. p. 8.
20. Chatterjee A, Shah S, Bonshek R, et al. Relationship of histological change to corneal temperature change following PRK. J Refract Corneal Surg. 1997; 13 (Suppl): S462–3.
21. Schwind Press Release. Thermodynamic measurements confirm high safety of the SCHWIND AMARIS' intelligent thermal effect control. Kleinostheim, Germany; 2010 Apr. Available from: <http://www.eye-tech-solutions.com/en/home/information-centre/press-centre>.

## ЛАПАРОСКОПИЧЕСКАЯ РЕЗЕКЦИЯ ПОДКОВООБРАЗНОЙ ПОЧКИ ПО ПОВОДУ ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНОГО РАКА

А. Г. Мурадян<sup>1,4✉</sup>, Н. В. Воробьев<sup>2</sup>, А. А. Костин<sup>3,4</sup>, А. О. Толкачев<sup>2</sup>, Н. Н. Волченко<sup>5</sup>, С. В. Попов<sup>4</sup>, И. С. Мамонтова<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Кафедра урологии и оперативной нефрологии, медицинский институт, Российский университет дружбы народов, Москва

<sup>2</sup> Отделение онкоурологии, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена – филиал Национального медицинского исследовательского радиологического центра, Москва

<sup>3</sup> Кафедра урологии, онкологии, радиологии, факультет повышения квалификации медицинских работников, Российский университет дружбы народов, Москва

<sup>4</sup> Национальный медицинский исследовательский радиологический центр, Москва

<sup>5</sup> Отделение онкоцитологии, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена – филиал Национального медицинского исследовательского радиологического центра, Москва

<sup>6</sup> Отделение рентгенодиагностики, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена – филиал Национального медицинского исследовательского радиологического центра, Москва

Сращение почек — одна из наиболее распространенных почечных аномалий. Чаще всего встречается подковообразная почка, которая характеризуется сращением полюсов органа, как правило — нижних. Нами описан клинический случай злокачественной опухоли в правой половине подковообразной почки (рак I стадии cT1aN0M0) у мужчины 65 лет, которому была выполнена лапароскопическая резекция. Было показано, что лапароскопия является не менее эффективным методом, чем открытое хирургическое вмешательство. Однако при планировании операции необходимо использовать спиральную компьютерную томографию для трехмерной реконструкции органа и выявления его анатомических особенностей, вызванных aberrантным кровоснабжением подковообразной почки.

**Ключевые слова:** подковообразная почка, почечноклеточный рак, лапароскопическая резекция, лапароскопия

✉ **Для корреспонденции:** Аветик Гагикович Мурадян  
117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8; mdmuradyan@gmail.com

Статья поступила: 29.02.2016 Статья принята к печати: 04.04.2016

## LAPAROSCOPIC RESECTION OF THE HORSESHOE KIDNEY FOR RENAL CELL CARCINOMA

Muradyan AG<sup>1,4✉</sup>, Vorobyev NV<sup>2</sup>, Kostin AA<sup>3,4</sup>, Tolkachev AO<sup>2</sup>, Volchenko NN<sup>5</sup>, Popov SV<sup>4</sup>, Mamontova IS<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Department of Urology and Surgical Nephrology, Medical College, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Oncourology Department, Herten Moscow Cancer Research Institute, a branch of the Medical Radiological Research Centre, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Department of Urology, Oncology and Radiology, Faculty of advanced training for health workers, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Medical Radiological Research Centre, Moscow, Russia

<sup>5</sup> Department of Oncourology, Herten Moscow Cancer Research Institute, a branch of the Medical Radiological Research Centre, Moscow, Russia

<sup>6</sup> Department of radiology, Herten Moscow Cancer Research Institute, a branch of the Medical Radiological Research Centre, Moscow, Russia

Renal fusion is one of the most common kidney anomalies. The most frequent is horseshoe kidney, characterized by a fusion of the poles (typically the lower poles) of the kidneys. We described a clinical case of a malignant tumor in the right half of the horseshoe kidney (stage 1 cancer, CT1aN0M0) in a man aged 65 years, who underwent laparoscopic resection. It was shown that laparoscopy is no less efficient than open surgery. However, in planning the operation, it is necessary to use spiral computed tomography for three-dimensional reconstruction of the organ and identification of its anatomical features caused by aberrant blood supply to horseshoe kidney.

**Keywords:** horseshoe kidney, renal cell carcinoma, laparoscopic resection, laparoscopy

✉ **Correspondence should be addressed:** Avetik Muradyan  
ul. Miklukho-Maklaya, d. 8, Moscow, Russia, 117997; mdmuradyan@gmail.com

Received: 29.02. 2016 Accepted: 04.04.2016

Заболеваемость опухолями почек растет на протяжении последних десятилетий. В России на долю рака почки (чаще всего это почечноклеточный рак, ПКР) приходится 3,9 % всех злокачественных новообразований, при этом в 2014 г. были зарегистрированы 8 430 случаев смерти от этого заболевания и выявлены 22 234 новых пациента [1]. Если ПКР диагностируют на клинической стадии T1 [2], возможно выполнение резекции почки, что является золотым стандартом лечения опухолей диаметром меньше 4 см. Необходимо отметить, что в последнее время растет число лапароскопических или роботизированных операций у данной категории больных.

Врожденные аномалии почек и мочевыводящей системы встречаются у населения примерно в 3,3–11,0 % случаев [3]. По данным аутопсии, на сращение почек приходится 16,5 % всех почечных аномалий — 1 случай на 425–700 человек. При этом мужчин с подобным отклонением в два раза больше, чем у женщин. Наиболее частым и клинически значимым видом сращения почек является подковообразная почка, которая характеризуется сращением в области нижних полюсов (в 90 % случаев), реже — верхних, в результате чего соединенные почки приобретают U-образную форму, напоминающую подкову. При этом каждая из почек имеет свой мочеточник, впадающий в мочевой пузырь, и питающие сосуды [4].

Диагностика аномалий формы почек на современном этапе не вызывает затруднений, так как уже по данным ультразвукового исследования можно определить наличие и вид аномального сращения. Компьютерная томография с внутривенным контрастным усилением позволяет получить более полную информацию о состоянии почечной паренхимы, кровоснабжении, мочевыводящих путях, взаимоотношении с соседними органами. Так, по данным литературы, подковообразная почка имеет аномальное кровоснабжение в 70,0–84,3 % случаев [5].

### Описание клинического случая

Больной В., 65 лет, обратился в Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена (МНИОИ им. П. А. Герцена) с ранее выявленным объемным образованием правой почки.

Из анамнеза известно, что пациент считает себя больным с августа 2015 г., когда отметил повышение температуры тела до 38,5–40,0 °С и был госпитализирован в инфекционное отделение медико-санитарной части г. Челябинск, где при ультразвуковом исследовании органов брюшной полости было выявлено опухолевое образование правой почки. Далее самостоятельно обратился в МНИОИ им. П. А. Герцена.

Наследственный анамнез пациента отягощен: отец страдал раком легкого. Из сопутствующих заболеваний: артериальная гипертензия II степени; сахарный диабет 2 типа, стадия декомпенсации; цирроз печени токсической этиологии, класс B по Child-Pugh; портальная гипертензия; варикозное расширение вен пищевода, осложнившееся кровотечением, по поводу которого было проведено эндоскопическое лигирование в 2014 г.

С помощью ультразвукового исследования и спиральной компьютерной томографии органов брюшной полости и забрюшинного пространства на границе верхней и нижней трети правой почки по передней поверхности было определено объемное опухолевое образование размерами 34 x 35 x 35 мм без признаков инвазии в чашечно-лоханочную систему. Кроме того, обнаружили сращение почек в области нижних полюсов. Выявленный порок был медицинской находкой, поскольку его клинические проявления у пациента отсутствовали. Балл по нефрометрической шкале RENAL составил 4a (рис. 1, 2).

При оценке распространенности опухолевого процесса регионарных и отдаленных метастазов не выявили. Поставленный диагноз: рак правой половины подковообразной почки I стадии cT1aN0M0.

19 октября 2015 г. была выполнена лапароскопическая резекция правой половины подковообразной почки. После наложения пневмоперитонеума с помощью иглы Вереща установили три троакара по общепринятой методике [6]. При ревизии на границе верхней и средней трети правой половины подковообразной почки по латеральной поверхности определили опухолевое образование с максимальным размером до 4 см. Почечная ножка была мобилизована, на нее наложили зажим через контрапертуру. При помощи «холодных» ножниц произвели резекцию опухоли в пределах здоровых тканей. Рану почки ушили

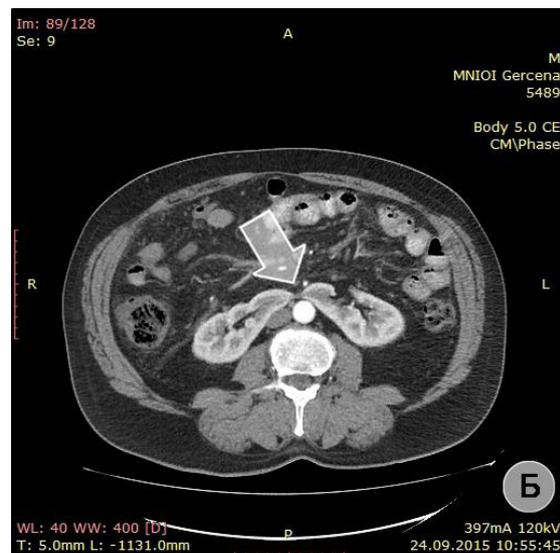
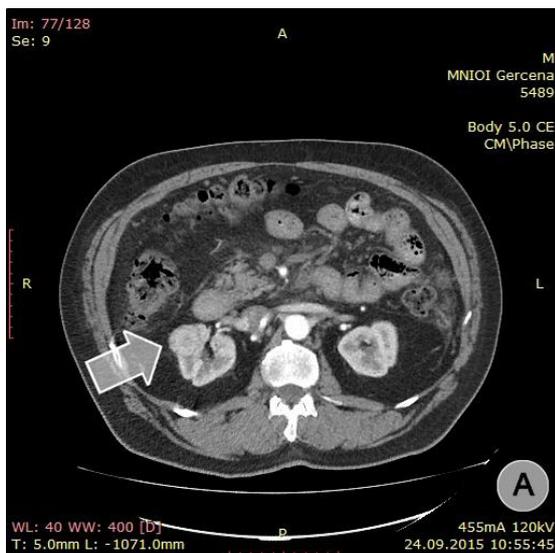


Рис. 1. Срезы артериальной фазы спиральной компьютерной томографии органов брюшной полости. (А) Опухоль правой половины подковообразной почки (стрелка) на границе верхней и средней трети. (Б) Перешеек подковообразной почки (стрелка) на уровне L<sub>4</sub>

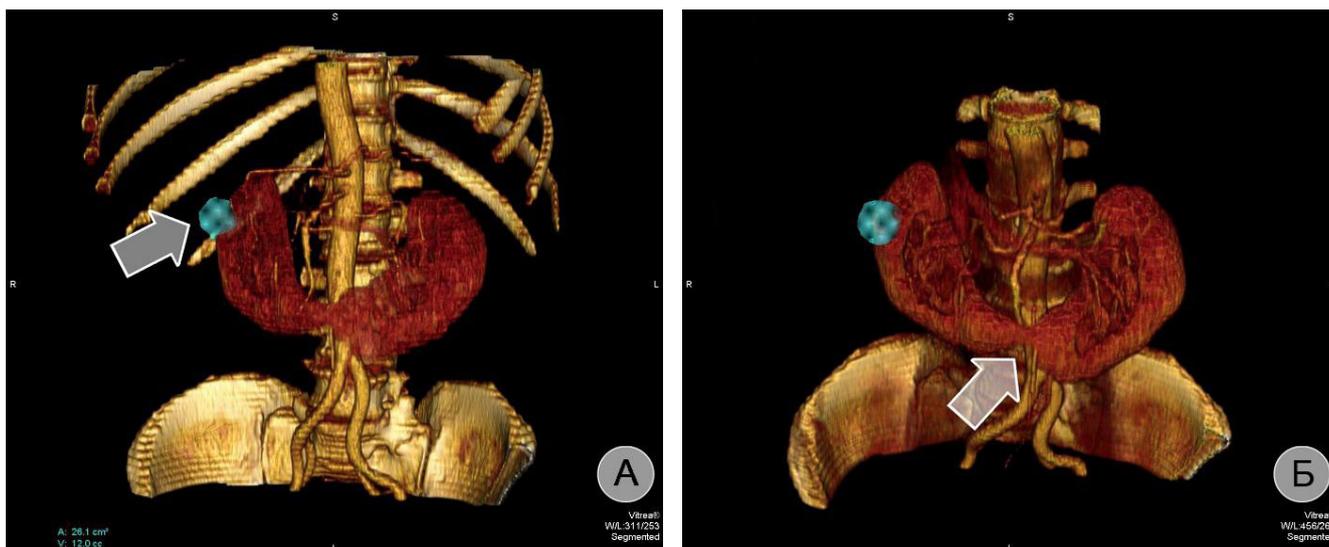


Рис. 2. Трехмерная реконструкция почек и магистральных сосудов по данным спиральной компьютерной томографии. (А) Опухоль правой половины подковообразной почки (стрелка). (Б) Перешеек подковообразной почки (стрелка)

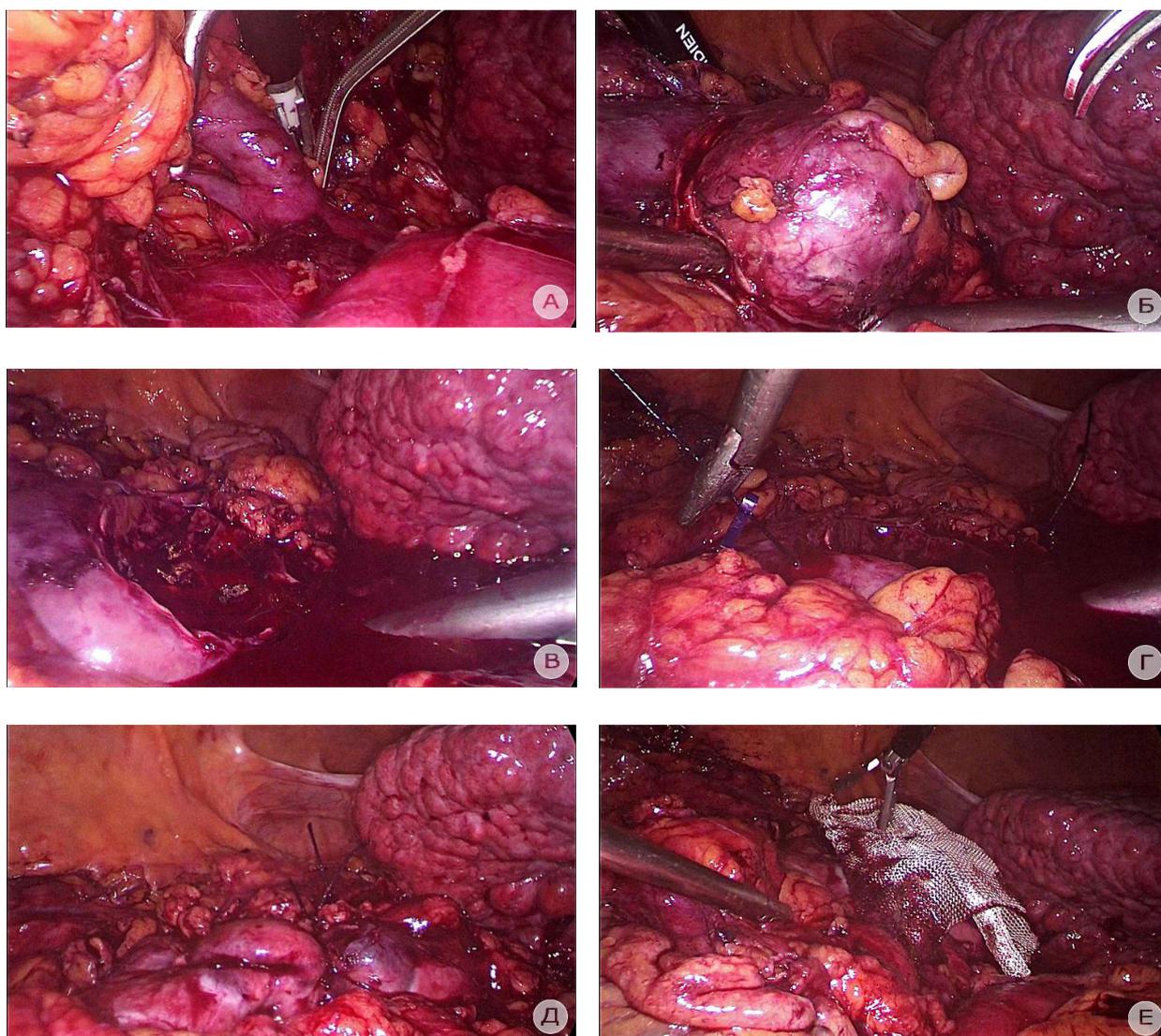


Рис. 3. Этапы операции. (А) Наложение зажима на почечные сосуды. (Б) Опухоль правой половины подковообразной почки. (В) Ложе удаленной опухоли. (Г) Ушивание раны почки. (Д) Вид резецированной почки. (Е) Укрытие раны почки гемостатической сеткой

атравматическим швом с использованием не рассасывающихся клипс Absolok (Ethicon, Бельгия, США) (рис. 3). При выполнении операции мы использовали инструментарий и приборы компании Karl Storz (Германия).

Продолжительность операции составила 160 мин, время аноксии — 20 мин, объем кровопотери — 400 мл. Послеоперационный период протекал без осложнений. Скорость клубочковой фильтрации на предоперационном этапе составила 87 мл/мин, на 4-е сутки — 59 мл/мин, на 8-е — 67 мл/мин. Больной был выписан на 9-е сутки в удовлетворительном состоянии.

При морфологическом исследовании был выявлен светлоклеточный почечно-клеточный рак G1, без распространения на паранефральную клетчатку и с отсутствием опухолевых клеток по краю резекции (R0) (рис. 4).

**Обсуждение клинического случая**

Подковообразная почка впервые была описана da Carpi в 1522 г., а более подробно — Morgagni в 1761 г. [7]. Несмотря на то, что часто такая аномалия не имеет клинических проявлений, в ряде случаев она сочетается со стриктурами лоханочно-мочеточникового сегмента и мочекаменной болезнью [8, 9]. Подковообразная почка может быть выявлена в 20 % случаев синдрома Дауна и 60 % случаев синдрома Тернера, а также при синдромах Патау, Гарднера и Эдвардса [10, 11]. По данным Glenn, подковообразная почка встречается у 78,9 % мертворожденных плодов, у 28,5 % новорожденных и 3,5 % взрослых пациентов [12].

Хирургическое лечение рака подковообразной почки основано на тех же принципах, что применяются при хирургических вмешательствах в отсутствие опухоли. Резекция почки была предложена Wells в 1884 г., а в 1950 г. Vermooten описал и обосновал показания к выполнению органосохраняющих операций при ПКР [13, 14].

Трансперитонеальный лапароскопический доступ — наиболее часто используемый метод разделения перешейка (истмомотии), пиелопластики, резекции или геминефрэктомии. В настоящее время определено, что лапароскопические операции при раке подковообразной почки так же эффективны, как и открытые хирургические вмешательства [15]. Однако наличие сложной сосудистой сети и ротации подчас диктует необходимость выполнения открытых вмешательств [16]. В связи с наличием aberrантного кровоснабжения при планировании операции, особенно по поводу опухолевых образований, следует использовать компьютерную томографию, которая позволяет определить сосудистую архитектуру и точное расположение чашечно-лоханочной системы [17–19].

Следует отметить, что лапароскопические операции при раке подковообразной почки пока редки и нам удалось найти описание всего трех случаев выполнения лапароскопической резекции подковообразной почки [7, 13, 20], информация о которых представлена в таблице.

**Выводы**

Лапароскопическая резекция почки у пациентов с опухолями диаметром до 4 см является стандартом хирургического лечения. Тем не менее, учитывая aberrантное кровоснабжение подковообразной почки, ведение пациентов с этой аномалией требует особого диагностического подхода. Наш опыт показывает, что спиральная компьютерная томография с контрастированием позволяет оценить анатомические особенности почки пациента и, как следствие, применить современные малоинвазивные методы хирургического лечения. Использование лапароскопического доступа для органосохраняющего лечения почечноклеточного рака подковообразной почки может стать альтернативным методом лечения этой патологии.

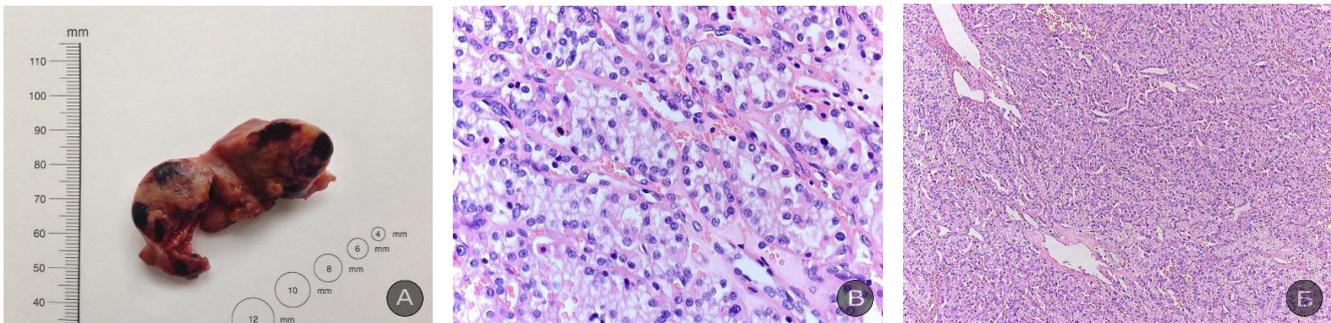


Рис. 4. (А) Макропрепарат на разрезе. (Б) Микропрепарат с окраской гематоксилином, x10. (В) Микропрепарат с окраской эозином, x40

Краткое описание клинических случаев выполнения лапароскопической резекции подковообразной почки при почечноклеточном раке (по данным научной литературы)

Исследование	Возраст/пол	Сторона	Расположение опухоли	Размер опухоли, мм	Доступ	Время операции, мин	Время тепловой ишемии, мин	Объем кровопотери	Морфологический диагноз
Tsivian et al., 2006 [20]	62/Ж	Правая	Нижняя передняя поверхность правой части перешейка	20	Лапароскопический	210	–	70	ПКР
Ткоcz et al., 2012 [13]	72/Ж	–	Нижний полюс	40	Ретроперитонеоскопический	–	–	–	ПКР, G3
Benidir et al., 2014 [7]	58/М	Правая	Верхний полюс	40	Лапароскопический	180	25	200	ПКР, G1

Литература

- Каприн А. Д., Старинский В. В., Петрова Г. В., редакторы. Злокачественные новообразования в России в 2014 году. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России; 2016. 250 с.
- Kane CJ, Mallin K, Ritchey J, Cooperberg MR, Carroll PR. Renal cell cancer stage migration: analysis of the National Cancer Data Base. *Cancer*. 2008 Jul 1; 113 (1): 78–83.
- Barakat AJ, Drougas JG. Occurrence of congenital abnormalities of kidney and urinary tract in 13,775 autopsies. *Urology*. 1991 Oct; 38 (4): 347–50.
- Лопаткин Н. А., редактор. Руководство по урологии. В 3-х томах. Т. 2. М.: Медицина; 1998. 768 с.
- Лопаткин Н. А., редактор. Урология: Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009. 1024 с.
- Хинман Ф.. Оперативная урология: Атлас. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007. 1192 с.
- Benidir T, Coelho de Castilho TJ, Cherubini GR, de Almeida Luz M. Laparoscopic partial nephrectomy for renal cell carcinoma in a horseshoe kidney. *Can Urol Assoc J*. 2014 Nov; 8 (11–12): E918–20.
- Natsis K, Piagkou M, Skotsimara A, Protogerou V, Tsitouridis I, Skandalakis P. Horseshoe kidney: a review of anatomy and pathology. *Surg Radiol Anat*. 2014 Aug; 36 (6): 517–26.
- Hohenfellner M, Schultz-Lampel D, Lampel A, Steinbach F, Cramer BM, Thüroff JW. Tumor in the horseshoe kidney: clinical implications and review of embryogenesis. *J Urol*. 1992 Apr; 147 (4): 1098–102.
- Araki K, Matsumoto K, Shiraishi T, Ogura H, Kurashige T, Kitamura I. Turner's syndrome with agenesis of the corpus callosum, Hashimoto's thyroiditis and horseshoe kidney. *Acta Paediatr Jpn*, 1987 Aug; 29 (4): 622–6.
- Herrera L, Kakati S, Gibas L, Pietrzak E, Sandberg A. Brief clinical report: Gardner syndrome in a man with an interstitial deletion of 5q. *Am J Med Genet*. 1986 Nov; 25 (3): 473–6.
- Glenn JF. Analysis of 51 patients with horseshoe kidney. *N Engl J Med*. 1959 Oct 1; 261: 684–7.
- Tkocz M, Kupajski M. Tumour in horseshoe kidney — different surgical treatment shown in five example cases. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2012; 16 (3): 254–7.
- Herr HW. Surgical management of renal tumors: a historical perspective. *Urol Clin North Am*. 2008 Nov; 35 (4): 543–9.
- Pitts WR Jr., Muecke EC. Horseshoe kidneys: a 40-year experience. *J Urol*. 1975 Jun; 113 (6): 743–6.
- Greene GF, Bissada NK, Madi R. Renal cell carcinoma with caval thrombus extending to the right atrium in a horseshoe kidney: a unique surgical challenge. *Can Urol Assoc J*. 2009 Oct; 3 (5): 55–7.
- Jabbour ME, Goldfischer ER, Stravodimos KG, Klima WJ, Smith AD. Endopyelotomy for horseshoe and ectopic kidneys. *J Urol*. 1998 Sep; 160 (3 Pt 1): 694–7.
- Yohannes P, Smith AD. The endourological management of complications associated with horseshoe kidney. *J Urol*. 2002 Jul; 168 (1): 5–8.
- Patankar S, Dobhada S, Bhansali M. Case report: laparoscopic heminephrectomy in a horseshoe kidney using bipolar energy. *J Endourol*. 2006 Sep; 20 (9): 639–41.
- Tsivian A, Shtricker A, Benjamin S, Sidi AA. Laparoscopic partial nephrectomy for tumour excision in a horseshoe kidney. *Eur Urol*. 2007 Apr; 51 (4):1132–3. Epub 2006 Nov 3.

References

- Kaprin AD, Starinskiy VV, Petrova GV, editors. Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2014 godu. Moscow: MNIОI im. P. A. Gertsena – filial FGBU «NMIRTs» Minzdrava Rossii; 2016. 250 p. Russian.
- Kane CJ, Mallin K, Ritchey J, Cooperberg MR, Carroll PR. Renal cell cancer stage migration: analysis of the National Cancer Data Base. *Cancer*. 2008 Jul 1; 113 (1): 78–83.
- Barakat AJ, Drougas JG. Occurrence of congenital abnormalities of kidney and urinary tract in 13,775 autopsies. *Urology*. 1991 Oct; 38 (4): 347–50.
- Lopatkin NA, editor. Rukovodstvo po urologii. 3 volumes. Vol. 2. Moscow: Meditsina; 1998. 768 p. Russian.
- Lopatkin NA, editor. Urologiya: Natsional'noe rukovodstvo. Moscow: GEOTAR-Media; 2009. 1024 p. Russian.
- Hinman F. Operativnaya urologiya: Atlas. Moscow: GEOTAR-Media; 2007. 1192 p. Russian.
- Benidir T, Coelho de Castilho TJ, Cherubini GR, de Almeida Luz M. Laparoscopic partial nephrectomy for renal cell carcinoma in a horseshoe kidney. *Can Urol Assoc J*. 2014 Nov; 8 (11–12): E918–20.
- Natsis K, Piagkou M, Skotsimara A, Protogerou V, Tsitouridis I, Skandalakis P. Horseshoe kidney: a review of anatomy and pathology. *Surg Radiol Anat*. 2014 Aug; 36 (6): 517–26.
- Hohenfellner M, Schultz-Lampel D, Lampel A, Steinbach F, Cramer BM, Thüroff JW. Tumor in the horseshoe kidney: clinical implications and review of embryogenesis. *J Urol*. 1992 Apr; 147 (4): 1098–102.
- Araki K, Matsumoto K, Shiraishi T, Ogura H, Kurashige T, Kitamura I. Turner's syndrome with agenesis of the corpus callosum, Hashimoto's thyroiditis and horseshoe kidney. *Acta Paediatr Jpn*, 1987 Aug; 29 (4): 622–6.
- Herrera L, Kakati S, Gibas L, Pietrzak E, Sandberg A. Brief clinical report: Gardner syndrome in a man with an interstitial deletion of 5q. *Am J Med Genet*. 1986 Nov; 25 (3):473–6.
- Glenn JF. Analysis of 51 patients with horseshoe kidney. *N Engl J Med*. 1959 Oct 1; 261: 684–7.
- Tkocz M, Kupajski M. Tumour in horseshoe kidney — different surgical treatment shown in five example cases. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2012; 16 (3): 254–7.
- Herr HW. Surgical management of renal tumors: a historical perspective. *Urol Clin North Am*. 2008 Nov; 35 (4): 543–9.
- Pitts WR Jr., Muecke EC. Horseshoe kidneys: a 40-year experience. *J Urol*. 1975 Jun; 113 (6): 743–6.
- Greene GF, Bissada NK, Madi R. Renal cell carcinoma with caval thrombus extending to the right atrium in a horseshoe kidney: a unique surgical challenge. *Can Urol Assoc J*. 2009 Oct; 3 (5): 55–7.
- Jabbour ME, Goldfischer ER, Stravodimos KG, Klima WJ, Smith AD. Endopyelotomy for horseshoe and ectopic kidneys. *J Urol*. 1998 Sep; 160 (3 Pt 1): 694–7.
- Yohannes P, Smith AD. The endourological management of complications associated with horseshoe kidney. *J Urol*. 2002 Jul; 168 (1): 5–8.
- Patankar S, Dobhada S, Bhansali M. Case report: laparoscopic heminephrectomy in a horseshoe kidney using bipolar energy. *J Endourol*. 2006 Sep; 20 (9): 639–41.
- Tsivian A, Shtricker A, Benjamin S, Sidi AA. Laparoscopic partial nephrectomy for tumour excision in a horseshoe kidney. *Eur Urol*. 2007 Apr; 51 (4):1132–3. Epub 2006 Nov 3.

## ВАЛИДИЗАЦИЯ ШКАЛ MFTS И AQSA У БОЛЬНЫХ С ПЕРЕЛОМАМИ КОСТЕЙ СТОПЫ В СОСТАВЕ МНОЖЕСТВЕННОЙ И СОЧЕТАННОЙ ТРАВМЫ

М. А. Королёв<sup>✉</sup>, Д. О. Ярмак, Е. А. Мирошникова, Г. В. Коробушкин

Кафедра травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии, педиатрический факультет, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

Для оценки эффективности лечения в травматологии применяют различные шкалы и оценочные опросники. В работе представлены данные проверки валидности двух шкал, разработанных авторами: Moscow Foot Trauma Scale, MFTS (московская шкала оценки функции стопы после травмы) и Abbreviated Questionnaire of Subjective Assessment, AQSA (сокращенный опросник субъективной оценки). В исследовании участвовали 79 пациентов (59 мужчин, 20 женщин; средний возраст — 42 года) с переломами костей стопы в составе сочетанной и множественной травмы. Для шкал рассчитывали коэффициенты надежности, стабильности, константности, внутренней согласованности (альфа Кронбаха), отдельной корреляции (лямбда Гутмана) и внутригрупповой корреляции. В качестве шкал-эталонов использовали SF-36 (Short Form 36) и AOFAS (American Orthopaedic Foot and Ankle Society Score). Исследование выявило высокую воспроизводимость новых шкал: коэффициент стабильности был равен 0,85–0,96 для MFTS и до 0,93 для AQSA. Была отмечена их надежность и внутренняя согласованность.

**Ключевые слова:** MFTS, AQSA, SF-36, AOFAS, шкала оценки, валидность, конвергентная валидность, коэффициент внутренней согласованности, коэффициент отдельной корреляции, коэффициент внутригрупповой корреляции, переломы костей стопы, множественная травма

✉ **Для корреспонденции:** Максим Александрович Королёв  
117049, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 10, корп. 7; doctorkoroleff@mail.ru

Статья получена: 30.03.2016 Статья принята в печать: 07.04.2016

## MFTS AND AQSA SCALES VALIDATION IN PATIENTS WITH MULTIPLE AND CONCOMITANT FOOT FRACTURES

Korolev MA<sup>✉</sup>, Yarmak DO, Miroschnikova CA, Korobushkin GV

Department of Traumatology, Orthopedics and Field Surgery, Faculty of Pediatrics Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

To assess the effectiveness of treatment in traumatology, different scales and assessment questionnaires are used. This work presents the results of the validity test of the two scales designed by the authors, namely, Moscow Foot Trauma Scale (MFTS) and Abbreviated Questionnaire of Subjective Assessment (AQSA). The study enrolled 79 patients (59 male and 20 female individuals with a mean age of 42) with multiple or concomitant foot fractures. For the scales, coefficients of reliability, stability, constancy, internal consistency (Cronbach's alpha), split-half correlation (Guttman's lambda) and intraclass correlation were calculated. SF-36 (Short Form 36) and AOFAS (American Orthopaedic Foot and Ankle Society Score) were used as reference scales. The study revealed a high reproducibility of the new scales: stability coefficient was 0.85–0.96 for MFTS and up to 0.93 for AQSA. Their reliability and internal consistency were established.

**Keywords:** MFTS, AQSA, SF-36, AOFAS, rating scale, validity, convergent validity, internal consistency coefficient, split-half correlation coefficient, intraclass correlation coefficient, foot fractures, multiple injury

✉ **Correspondence should be addressed:** Maksim Korolev  
Leninskiy prospect, d. 10, korp. 7, Moscow, Russia, 117049; doctorkoroleff@mail.ru

Received: 30.03.2016 Accepted: 07.04.2016

Современные требования к оказанию медицинской помощи пациентам с тяжелыми травмами заставляют врача думать не просто о ранней диагностике, активном лечении и последующей реабилитации пациента, но и об экономической эффективности всех действий, о сокращении сроков лечения и реабилитации и снижении инвалидизации. Диагностика и лечение сочетанных и множественных травм, помимо объективных сложностей — кратковременности пребывания пациента в отделении, отсутствия анамнестических данных и общего тяжелого состояния, —

характеризуются значительными финансовыми и материальными затратами клиник и фондов медицинского страхования. Это определяет важность объективной оценки эффективности лечения, для чего используют, как правило, шкалы оценки.

Существует большое количество шкал и оценочных опросников. Выделяют неспецифичные (общеоценочные: VAS, NRS, SF-36 и др.) и специфичные шкалы (для определенной патологии: AOFAS, FFI, DASH и др.), которые можно охарактеризовать по валидности (обоснованности),

комплаентности (дружелюбности), надежности, воспроизводимости результатов в последующих исследованиях, чувствительности к объективным изменениям в показателях. По этим параметрам выбирают оценочный инструмент для определенной группы пациентов [1–3].

Однако существующие шкалы несовершенны, и требуется создание новых опросников для оценки исхода лечения и его правильной интерпретации, а также их валидизация [4–7]. Нами на кафедре травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н. И. Пирогова были разработаны две новые шкалы.

Moscow Foot Trauma Scale, MFTS (московская шкала оценки функции стопы после травмы) — специфичная шкала для оценки результатов лечения после повреждения костей стопы. Состоит из субъективной и объективной части, каждая из которых включает 3 вопроса с вариантами ответов (рис. 1). В конце шкалы даны ключи, указывающие количество баллов за каждый ответ. Возможная

*Заполняется врачом*

#### Объективная часть

- 1) Функция (объем движения)
  - 1.1) Активные движения
    - А) Полная — 100 %
    - Б) Умеренно ограничена — более 50 %
    - В) Выраженно ограничена — менее 50 %
  - 1.2) Пассивные движения
    - А) Полная — 100 %
    - Б) Умеренно ограничена — более 50 %
    - В) Выраженно ограничена — менее 50 %
- 2) Использование дополнительных средств опоры и ортопедических изделий
  - А) Нет
  - Б) Иногда
  - В) Постоянно
- 3) Опороспособность конечности
  - А) Полная
  - Б) Умеренная
  - В) Низкая

*Заполняется пациентом*

#### Субъективная часть

- 4) Боль
  - А) Отсутствует
  - Б) Умеренно выраженная
  - В) Сильная
  - Г) Очень сильная
  - Д) Невыносимая
- 5) Социализация
  - А) Прежняя работа без ограничений
  - Б) Прежняя работа с ограничениями
  - В) Перевелся на более простую работу
  - Г) Не работаю по причине травмы стопы
  - Д) Не работаю по другим причинам
- 6) Удовлетворенность результатом
  - А) Отлично
  - Б) Хорошо
  - В) Удовлетворительно
  - Г) Плохо
  - Д) Очень плохо

#### Ключи (в баллах)

- 1.1) А 20, Б 10, В 0
- 1.2) А 3, Б 2, В 0
- 2) А 2, Б 1, В 0
- 3) А 4, Б 1, В 0
- 4) А 15, Б 10, В 5, Г 1, Д 0
- 5) А 40, Б 30, В 20, Г 10, Д 0
- 6) А 6, Б 3, В 2, Г 1, Д 0

#### Интерпретация результатов

90–61 б — отлично; 60–41 б — хорошо; 40–21 б — удовлетворительно; 20–11 б — плохо; 10–0 б — очень плохо.

**Рис. 1.** Анкета для оценки эффективности лечения переломов костей стопы по шкале MFTS (Moscow Foot Trauma Scale)

сумма баллов — от 0 до 90. Возможные результаты оценки эффективности лечения: 90–61 б — отлично; 60–41 б — хорошо; 40–21 б — удовлетворительно; 20–11 б — плохо; 10–0 б — очень плохо.

Abbreviated Questionnaire of Subjective Assessment, AQSA (сокращенный опросник субъективной оценки) — неспецифичная шкала, по которой можно оценить наличие у пациента ограничения активности, потребность в ортопедической обуви повышенной сложности, использование средств дополнительной опоры, необходимость купирования болевого синдрома анальгетиками, изменение характера выполняемой работы. Включает 6 вопросов (рис. 2). В конце шкалы даны ключи, указывающие количество баллов за каждый ответ. Возможная сумма баллов — от 0 до 30. Чем выше значение, тем хуже результат: 0–10 б — хорошо; 11–20 б — удовлетворительно, выше 20 б — плохо.

Перед использованием вновь разработанной шкалы необходимо подтвердить ее теоретическую и прагматическую валидность в условиях применения. Подтверждение теоретической валидности позволяет определить, действительно ли данная шкала оценивает нужный нам показатель, а прагматической — насколько хорошо шкала выполняет свою функцию на практике, при работе с пациентами. Валидность толкуют по-разному — в зависимости от задачи. Обычно под ней подразумевают степень уверенности в том, что тест, измерение или эксперимент действительно выполняет ту функцию, для которой они предназначены [8].

Проверка валидности нового инструмента оценки является довольно сложной задачей. В травматологии для верификации теоретической валидности чаще всего используют шкалы SF-36 (Short Form 36) и AOFAS (American Orthopaedic Foot and Ankle Society Score), которые подтвердили свою устойчивость в популяционных исследованиях на больших и относительно однородных выборках [9–13].

#### Вопрос

- 1) Работаете ли вы сейчас?
  - А) Да
  - Б) Нет
- 2) Какой характер работы
  - А) Прежняя
  - Б) Облегченная
  - В) Инвалидность
- 3) Принимаете обезболивающие?
  - А) Да
  - Б) Нет
- 4) Имеет место ограничение активности?
  - А) Да
  - Б) Нет
- 5) Используете дополнительные средства опоры?
  - А) Да
  - Б) Нет
- 6) Какую обувь вы носите?
  - А) Обычную
  - Б) Ортопедическую
  - В) Стельки

#### Ключи (в баллах)

- 1) А 0, Б 5
- 2) А 0, Б 3, В 5
- 3) А 5, Б 0
- 4) А 5, Б 0
- 5) А 5, Б 0
- 6) А 0, Б 5, В 3

#### Интерпретация результатов

0–10 б — хорошо; 11–20 б — удовлетворительно, выше 20 б — плохо.

**Рис. 2.** Анкета для оценки эффективности лечения переломов костей стопы по шкале AQSA (Abbreviated Questionnaire of Subjective Assessment)

В ходе анализа должна отмечаться связь признаков, оцениваемых проверяемой шкалой, с родственными признаками шкалы-эталона и отсутствие ее с признаками, имеющими другие теоретические основания. Тогда это будет означать, что сфера применения шкалы была выбрана правильно.

Прагматическую валидность оценивают по внешнему признаку, который должен быть релевантным (т. е. по смыслу соответствовать изучаемому признаку), свободным от помех (обычно это обеспечивается формированием достаточно однородной выборки) и надежным [14].

До проверки валидности требуется установить уровень надежности системы. Надежность — это относительное постоянство, устойчивость, согласованность результатов теста при первичном и повторном применении на одной группе пациентов. К. М. Гуревич рекомендует толковать надежность как: 1) надежность самого измерительного инструмента; 2) стабильность изучаемого признака; 3) константность, т. е. относительную независимость результатов от личности экспериментатора, — и предлагает рассчитывать три соответствующих коэффициента: надежности, стабильности и константности [15].

Коэффициент надежности рассчитывают методом расщепления (split-half reliability), при котором тест разделяют на равные части и вычисляют корреляционную связь между их значениями. При значении коэффициента корреляции выше 0,75 методика признается надежной.

Коэффициент стабильности изучаемого признака определяют приемом тест-ретест. Его смысл заключается в повторном тестировании группы испытуемых с применением исследуемой методики. Значение коэффициента корреляции между первичным и повторным исследованием характеризует стабильность признака.

Константность проверяют проведением тестирования одной группы испытуемых по одной методике, но разными исследователями. При соблюдении одинаковых условий значение коэффициента корреляции должно быть выше 0,80.

Помимо расчета указанных коэффициентов, можно оценить надежность системы методом эквивалентных бланков, который требует создания похожих форм одного теста и его тестирование на большой группе пациентов с вычислением корреляционной связи. Нами он не использовался в связи с большой трудоемкостью и относительно малой выборкой.

Совместно с вычислением вышеперечисленных показателей следует определять коэффициент внутренней согласованности (альфа Кронбаха,  $\alpha_K$ ), коэффициент раздельного коррелирования (лямбда Гутмана,  $\lambda_G$ ) и коэффициент Кадера–Ричардсона, (KR20) [16–18].

Целью исследования являлась проверка валидности шкал MFTS и AQSA для пациентов с переломами костей стопы в составе сочетанной и множественной травмы.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование включили 79 пациентов (59 мужчин, 20 женщин; средний возраст — 42 года) травматологического отделения Городской клинической больницы № 1 им. Н. И. Пирогова, прошедших в 2007–2016 гг. лечение по поводу переломов костей стопы в составе сочетанной и множественной травмы. Оперативное лечение провели у 32 пациентов, консервативное — у 47. Исследование было одобрено Этическим комитетом РНИМУ им. Н. И. Пи-

рогова (протокол № 139 от 10.11.2014). Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании.

По локализации переломы на правой стопе встречались чаще ( $n = 39$ ), чем на левой ( $n = 27$ ), и были билатеральными у 13 больных. При первичных осмотрах было выявлено 69 переломов, что составило 54,3 % от их общего числа. При последующих осмотрах травматологами и другими специалистами были диагностированы еще 24 перелома (26,0 %). Еще 28 переломов были позднодиагностированными, и из них 12 нуждались в оперативном лечении. Чем тяжелее было состояние пациента, тем выше был процент позднодиагностированных переломов. При тяжести состояния, оцененной по шкале ISS (Injury Severity Score) менее чем в 16 б, недиагностированными были 11 переломов, а более чем в 16 б — 17. До травмы 55 человек были полностью трудоспособными, после лечения трудоспособность сохранили 37 пациентов.

После много- либо одноэтапного лечения пациентов выписывали из стационара и наблюдали в травмпункте по месту жительства. При необходимости больных направляли в консультативный кабинет при крупных больницах.

Пациентов разделили на две группы: группу пациентов с ретроспективным наблюдением ( $n = 36$ ) и группу пациентов с проспективным наблюдением ( $n = 43$ ). Результаты лечения оценивали через 1, 3, 6 и 12 мес после травмы или повторного лечения, используя разработанные шкалы MFTS и AQSA и шкалы SF-36 и AOFAS. Для всех шкал рассчитали коэффициенты надежности, стабильности, константности,  $\alpha_K$ ,  $\lambda_G$  и коэффициент внутригрупповой корреляции. Коэффициент Кадера–Ричардсона не вычисляли в связи с недихотомическим характером всех шкал. При использовании приема тест-ретест повторное тестирование проводили через  $11 \pm 3,2$  дня.

Полученные числовые значения результатов лечения пациентов с переломами костей стопы показывали важность внимательного отношения к проблемам диагностики и лечения костей стопы, а также своевременного и внимательного ознакомления пациента с тактикой дальнейшего лечения.

Для статистического анализа данных использовали программу Statistica 10.0 (StatSoft, США). При относительно небольшой выборке приняли уровень значимости  $p \leq 0,05$ . Для анализа данных использовали методы непараметрической статистики в связи с наличием в большинстве случаев распределения данных, отличным от нормального.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В табл. 1 в качестве примера использования шкал представлены результаты оценки эффективности лечения пациентов через 12 мес с использованием эталонных и изучаемых шкал. Суммы баллов по шкалам MFTS и AQSA наравне с оценкой по шкалам SF-36 и AOFAS подтвердили закономерность: чем позднее были диагностированы переломы, тем ниже была эффективность лечения.

Коэффициент Кронбаха, свидетельствующий о внутренней согласованности шкалы, был наибольшим у шкалы MFTS, а коэффициент Гутмана — у общефизической составляющей шкалы SF-36 (PCS) (табл. 2). Высоким было и значение  $\lambda_G$  у MFTS.

Для шкалы MFTS в разные периоды тестирования значения коэффициента константности находились в диапазоне от 0,81 до 0,93, для AQSA — от 0,57 до 0,69.

**Таблица 1.** Результаты оценки эффективности лечения (через 12 мес) с использованием шкал SF-36, AOFAS, MFTS и AQSA

Шкала	Переломы костей стопы		
	ранодиагностированные	позднодиагностированные	недиагностированные
SF-36 (PCS/MCS)	51/47	38/46	34/28
AOFAS	54	43	31
MFTS	45	22	15
AQSA	7	18	16

**Примечание:** PCS — Physical Component Summary (общезысический компонент шкалы SF-36), MCS — Mental Component Summary (общепсихологический компонент шкалы SF-36). Результаты представлены в виде среднего арифметического.

**Таблица 3.** Значения конвергентной валидности для шкал SF-36, AOFAS, MFTS и AQSA

Шкала		SF-36 PCS		SF-36 MCS		AOFAS	
		P	П	P	П	P	П
MFTS	P	0,183	–	-0,206	–	0,22	–
	П	–	0,215	–	-0,719	–	0,104
AQSA	P	0,227	–	0,170	–	-0,301	–
	П	–	0,378	–	0,351	–	-0,292

**Примечание:** PCS — Physical Component Summary (общезысический компонент шкалы SF-36), MCS — Mental Component Summary (общепсихологический компонент шкалы SF-36); P — группа пациентов с ретроспективным наблюдением, П — группа пациентов с проспективным наблюдением;  $p \leq 0,05$ .

Коэффициент внутригрупповой корреляции, определенный с помощью приема тест-ретест, был равен для MFTS 0,85–0,96, а для AQSA — 0,76–0,93 (для обеих шкал  $p \leq 0,05$ ). Такой результат указывает на высокую зависимость показателей внутри шкал MFTS и AQSA.

В табл. 3 представлены значения конвергентной корреляции между эталонными и изучаемыми шкалами для обеих групп пациентов. Как видно, они имели низкий уровень значимости. Была выявлена связь шкалы MFTS с AOFAS и общезысическим компонентом SF-36, что логично, учитывая однонаправленную специализацию этих опросников. Однако все значения имели низкий уровень значимости, поэтому наличие реальной связи между шкалами можно только предполагать.

AQSA ввиду своей низкой специфичности коррелировала одновременно с физическим и психологическим компонентами SF-36, а корреляционная связь между ней и шкалой AOFAS имела отрицательное значение.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Высокий коэффициент Кронбаха у MFTS указывает на оптимальное построение вопросов в шкале. С помощью программы Statistica 10.0 оценили необходимость исключить похожие вопросы, и для MFTS было рекомендовано убрать 2 вопроса (чтобы снизить значение  $\alpha_K$ ), в то время как для AOFAS и AQSA было рекомендовано добавить от 1 до 3 вопросов для повышения внутренней согласованности оценочного инструмента.

Коэффициент Гутмана подтвердил эффективность оценки с применением общезысической составляющей

**Таблица 2.** Клинико-метрические свойства шкал SF-36, AOFAS, MFTS и AQSA

Шкала	SF 36		AOFAS	MFTS	AQSA
	PCS	MCS			
Количество вопросов	21	15	9	6	6
Коэффициент Кронбаха ( $\alpha_K$ )	0,982	0,957	0,989	0,993	0,99
Коэффициент Гутмана ( $\lambda_G$ )	0,986	0,951	0,983	0,985	0,981
Коэффициент внутригрупповой корреляции	0,896	0,769	0,93	0,961	0,936

**Примечание:** PCS — Physical Component Summary (общезысический компонент шкалы SF-36), MCS — Mental Component Summary (общепсихологический компонент шкалы SF-36).

шей шкалы SF-36 (0,986). Высокие значения показателя тест-ретест — 0,85–0,96 для MFTS и до 0,93 у AQSA — отразили хорошую воспроизводимость этих шкал.

Полученные данные свидетельствуют о достаточно высоком уровне индивидуальной валидности шкал MFTS и AQSA. Но значения конвергентной валидности при сравнении с эталонными шкалами были невысокими. Нельзя сказать точно, какой будет корреляция между показателями в условиях другого эксперимента, но важно, что связь все же есть. Возможно, в дальнейших исследованиях с участием разных групп пациентов нам удастся подтвердить ее наличие.

### ВЫВОДЫ

Результаты статистического анализа данных подтвердили высокую обоснованность, комплаентность для врача, чувствительность и надежность шкалы MFTS. К ее недостаткам относятся средняя воспроизводимость и низкая комплаентность для пациента. Шкала AQSA показала высокую надежность, воспроизводимость, комплаентность для врача и пациента, но низкую обоснованность и чувствительность. Значения конвергентной валидности указанных шкал с SF-36 и AOFAS продемонстрировала наличие связи между шкалами, но — относительно слабой связи.

Шкалы MFTS и AQSA можно применять для оценки эффективности лечения пациентов с переломами костей стопы в структуре сочетанной и множественной травмы, но при этом должны учитываться указанные для них особенности.

Литература

1. Вискарра М. Э., Зими́на Э. В., Гурина С. А., Ярыгин Н. В. Валидизация шкал и вопросников для оценки функционального состояния и качества жизни пациентов с переломовывихами голеностопного сустава. *Российские медицинские вести*. 2011; 16 (2): 61–71.
2. Новик А. А., Ионова Т. И. Руководство по исследованию качества жизни в медицине. М.: Изд-во «ОЛМА Медиа Групп»; 2007. 313 с.
3. Knop C, Oeser M, Bastian L. Development and validation of the visual analogue scale (VAS) spine score. *Unfallchirurg*. 2001; 104 (6): 488–97. German.
4. Евсина О. В. Качество жизни в медицине — важный показатель здоровья пациента (обзор литературы). *Личность в меняющемся мире: здоровье, адаптация, развитие*. 2013; (1): 119–33.
5. Вискарра М. Э., Ярыгин Н. В., Зими́на Э. В. Анализ факторов, влияющих на качество жизни и функциональное состояние пациентов с переломовывихами голеностопного сустава. *Проблемы стандартизации в здравоохранении*. 2011; (3-4): 9–15.
6. Вискарра М. Э. Изучение качества жизни и функционального состояния пациентов с переломовывихами голеностопного сустава с помощью шкал и опросников [диссертация]. М.: Московский государственный медико-стоматологический университет имени М. А. Евдокимова; 2011.
7. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Изд-во «Практика»; 1998. 459 с.
8. Головин С. Ю. Словарь практического психолога. Минск: Изд-во «Харвест»; 1998. 800 с.
9. Амирджанова В. Н., Горячев Д. В., Коршунов Н. И.,

- Ребров А. П., Сороцкая В. Н. Популяционные показатели качества жизни по опроснику SF-36 (результаты многоцентрового исследования качества жизни «МИРАЖ»). *Научно-практическая ревматология*. 2008; (1): 36–48.
10. Jenkinson C, Coulter A, Wright L. Short form 36 (SF-36) health survey questionnaire: normative data for adults of working age. *BMJ*. 1993; 306 (6890): 1437–40.
11. Kitaoka HB, Alexander U, Adelaar RS, et al. Clinical rating systems for the ankle hindfoot, midfoot, hallux and lesser toes. *Foot Ankle Int*. 1994. 15: 349–53.
12. SooHoo NF, Shuler M, Fleming LL; American Orthopaedic Foot and Ankle Society. Evaluation of the validity of the AOFAS Clinical Rating Systems by correlation to the SF-36. *Foot Ankle Int*. 2003 Jan; 24 (1): 50–5.
13. Ware JE, Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Med Care*. 1992 Jun; 30 (6): 473–83.
14. Schuh A, Hausel M. Difficulties in evaluating follow-up outcome in calcaneus fracture managed with plate osteosynthesis. Is there a reliable score? *Unfallchirurg*. 2000; 103 (4): 295–300. German.
15. Гуревич К. М., Борисова Е. М. Психологическая диагностика. М: Изд-во «УРАО»; 1997. 304 с.
16. Cronbach LJ. Coefficient alpha and the internal structure of tests. *Psychometrika*. 1951; 16: 297–334.
17. Kline P. A handbook of test construction (psychology revivals): introduction to psychometric design. Abingdon, UK: Routledge; 2015. 274 p.
18. Schmitt N. Uses and abuses of coefficient alpha. *Psychological Assessment*. 1996; 8 (4): 350–3.

References

1. Viskarra ME, Zimina EV, Gurina SA, Yarygin NV. Validizatsiya shkal i voprosnikov dlya otsenki funktsional'nogo sostoyaniya i kachestva zhizni patsientov s perelomovyvikhami golenostopnogo sustava. *Rossiyskie meditsinskie vesti*. 2011; 16 (2): 61–71. Russian.
2. Novik AA, Ionova TI. Rukovodstvo po issledovaniyu kachestva zhizni v meditsine. Moscow: Izd-vo "OLMA Media Grupp"; 2007. 313 p. Russian.
3. Knop C, Oeser M, Bastian L. Development and validation of the visual analogue scale (VAS) spine score. *Unfallchirurg*. 2001; 104 (6): 488–97. German.
4. Evsina OV. The quality of life in medicine — an important indicator of patient health status (review). *Lichnost' v menjajushemsja mire: zdorov'e, adaptacija, razvitie*. 2013; (1): 119–33. Russian.
5. Viskarra ME, Yarygin NV, Zimina EV. Analiz faktorov, vliyayushchikh na kachestvo zhizni i funktsional'noe sostoyanie patsientov s perelomovyvikhami golenostopnogo sustava. *Problemy standartizatsii v zdavookhranении*. 2011; (3-4): 9–15. Russian.
6. Viskarra ME. Izuchenie kachestva zhizni i funktsional'nogo sostoyaniya patsientov s perelomovyvikhami golenostopnogo sustava s pomoshch'yu shkal i oprosnikov [dissertation]. Moscow: M. I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry; 2011. Russian.
7. Glantz S. Mediko-biologicheskaya statistika. Moscow: Izd-vo "Praktika"; 1998. 459 s.
8. Golovin SYu. Slovar' prakticheskogo psihologa. Minsk: Izd-vo "Kharvest"; 1998. 800 p.
9. Amirdzhanova VN, Goryachev DV, Korshunov NI, Rebrov AP,

- Sorotskaya VN. SF-36 questionnaire population quality of life indices. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2008; (1): 36–48.
10. Jenkinson C, Coulter A, Wright L. Short form 36 (SF-36) health survey questionnaire: normative data for adults of working age. *BMJ*. 1993; 306 (6890): 1437–40.
11. Kitaoka HB, Alexander U, Adelaar RS, et al. Clinical rating systems for the ankle hindfoot, midfoot, hallux and lesser toes. *Foot Ankle Int*. 1994. 15: 349–53.
12. SooHoo NF, Shuler M, Fleming LL; American Orthopaedic Foot and Ankle Society. Evaluation of the validity of the AOFAS Clinical Rating Systems by correlation to the SF-36. *Foot Ankle Int*. 2003 Jan; 24 (1): 50–5.
13. Ware JE, Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Med Care*. 1992 Jun; 30 (6): 473–83.
14. Schuh A, Hausel M. Difficulties in evaluating follow-up outcome in calcaneus fracture managed with plate osteosynthesis. Is there a reliable score? *Unfallchirurg*. 2000; 103 (4): 295–300. German.
15. Gurevich KM, Borisova EM. Psihologicheskaja diagnostika. Moscow: Izd-vo "URAO"; 1997. 304 p. Russian.
16. Cronbach LJ. Coefficient alpha and the internal structure of tests. *Psychometrika*. 1951; 16: 297–334.
17. Kline P. A handbook of test construction (psychology revivals): introduction to psychometric design. Abingdon, UK: Routledge; 2015. 274 p.
18. Schmitt N. Uses and abuses of coefficient alpha. *Psychological Assessment*. 1996; 8 (4): 350–3.

## ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЕМКОСТИ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

Г. К. Владимиров<sup>1</sup>✉, Е. В. Сергунова<sup>2</sup>, Д. Ю. Измайлов<sup>1</sup>, Ю. А. Владимиров<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Кафедра медицинской биофизики, факультет фундаментальной медицины, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва

<sup>2</sup> Кафедра фармакогнозии, фармацевтический факультет, Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Москва

Лекарственное растительное сырье является одним из источников антиоксидантов для организма человека. Среди методов определения содержания антиоксидантов в растительных объектах распространен метод хемилюминесцентного анализа. В настоящей работе он был использован для оценки общей антиоксидантной емкости (ОАЕ) отваров плодов рябины, шиповника и боярышника и настоя плодов малины. В опыте регистрировали кинетику хемилюминесценции в системе, состоящей из пероксидазы хрена, перекиси водорода и люминола. Концентрации и объем компонентов системы в пробе были подобраны так, чтобы сильные антиоксиданты (аскорбиновая кислота) и антиоксиданты средней силы (кверцетин) полностью окислялись за время измерения (10 мин). Предложен и обоснован способ расчета ОАЕ на основе изменения светосуммы хемилюминесценции в присутствии растительных образцов. Анализ кинетики хемилюминесценции показал, что в изученных объектах преобладают антиоксиданты средней силы, в том числе флавоноиды, и слабые антиоксиданты (токоферол и др.). Сопоставление рассчитанных значений ОАЕ для изучаемых объектов и данных их химического анализа показало, что продукты, содержащие одно и то же количество антиоксидантов с разным их соотношением по типам, могут различаться по способности защищать организм от вредного воздействия свободных радикалов. Описанная методика перспективна для изучения растительных объектов, содержащих смесь антиоксидантов различных типов.

**Ключевые слова:** свободный радикал, антиоксидант, антиоксидантная активность, общая антиоксидантная емкость, хемилюминесценция, люминол

**Финансирование:** работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 14-15-00375.

**Благодарности:** авторы благодарят Андрея Алексева из Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова за помощь в проведении эксперимента.

✉ **Для корреспонденции:** Георгий Константинович Владимиров  
119192, г. Москва, Ломоносовский пр-т, д. 31, к. 5; ura-vladimirov@yandex.ru

**Статья получена:** 10.03.2016 **Статья принята в печать:** 18.03.2016

## CHEMILUMINESCENT DETERMINATION OF TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY IN MEDICINAL PLANT MATERIAL

Vladimirov GK<sup>1</sup>✉, Sergunova EV<sup>2</sup>, Izmaylov DY<sup>1</sup>, Vladimirov YuA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Medical Biophysics, Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, The First Sechenov Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Medicinal plant material is one of the sources of antioxidants for the human body. Chemiluminescence analysis is one of the common methods of determining the content of antioxidants in plant materials. In our work, chemiluminescence analysis was used to determine the total antioxidant capacity (TAC) of fruit decoctions of mountain-ash, rose and hawthorn, as well as raspberry fruit infusion. Experiments established the kinetics of the chemiluminescence of a system consisting of horseradish peroxidase, hydrogen peroxide and luminol. Concentrations and volumes of components of the system were chosen such that strong antioxidants (ascorbic acid) and antioxidants of average force (quercetin) were completely oxidized during measurement (10 minutes). A method for TAC calculation based on changes in chemiluminescence light sum in the presence of plant samples was proposed and substantiated. Analysis of chemiluminescence kinetics showed that antioxidants of average force dominate in the objects studied, including flavonoids and weak antioxidants (tocopherol and others). Comparison of the calculated TAC values for the objects under study and their chemical analysis data showed that products containing the same amount of antioxidants with different ratios of antioxidants by types might vary in their ability to protect the body against the harmful effects of free radicals. The technique described is a promising one for the study of plant objects containing a mixture of different types of antioxidants.

**Keywords:** free radical, antioxidant, antioxidant activity, total antioxidant capacity, chemiluminescence, luminol

**Funding:** this work was supported by the Russian Science Foundation, grant no. 14-15-00375.

**Acknowledgments:** authors thank Andrey Alekseev from Lomonosov Moscow State University for his assistance in conducting the experiment.

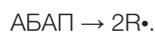
✉ **Correspondence should be addressed:** Georgiy Vladimirov  
Lomonosovskiy prospekt, d. 31, k. 5, Moscow, Russia, 119192; ura-vladimirov@yandex.ru

**Received:** 10.03.2016 **Accepted:** 18.03.2016

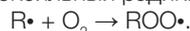
Свободные радикалы, образующиеся в организме, нарушают структуру мембран клеток, что, в свою очередь, ведет к развитию различных патологических состояний [1]. Разрушающее окислительное воздействие радикалов предупреждает система антиоксидантной защиты организма, в которой важную роль играют низкомолекулярные соединения — перехватчики (ловушки) радикалов. Одним из источников антиоксидантов является лекарственное растительное сырье [2], а также препараты на его основе, изучение антиоксидантного потенциала которых помогает повысить их профилактико-терапевтический эффект.

Основные методики определения антиоксидантов рассмотрены в работах [3–8], однако определение антиоксидантов как химических соединений не дает полного представления о защитных свойствах изучаемого объекта: они обуславливаются не только количеством того или иного антиоксиданта, но также активностью каждого из них. Активность антиоксиданта, или антиоксидантная активность, АОА, — это константа скорости реакции антиоксиданта со свободным радикалом ( $k_{\text{инт}}$ ). Метод хемилюминесценции (ХЛ) позволяет определять общее количество радикалов, которое связывают антиоксиданты в образце (общую антиоксидантную емкость, ОАЕ), а при использовании метода математического моделирования кинетики ХЛ — также скорость образования и реакции радикалов с антиоксидантами, то есть АОА [9–11].

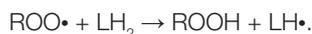
Наиболее распространенная модификация хемилюминесцентного метода определения общей антиоксидантной емкости основана на применении люминола в качестве активатора хемилюминесценции [12–15]. В кювету хемилюминометра помещают образец с добавлением люминола, пероксида водорода и соединения, способного образовывать радикалы в результате спонтанного распада (термолиза), например 2,2'-азобис-(2-амидинопропан) дигидрохлорида (АБАП):



В присутствии молекулярного кислорода алкильный радикал  $\text{R}\cdot$  образует пероксильный радикал  $\text{ROO}\cdot$ :



Далее пероксильный радикал окисляет хемилюминесцентный зонд люминол ( $\text{LH}_2$ ), и образуется радикал люминола ( $\text{LH}\cdot$ ):



Из  $\text{LH}\cdot$  через образование промежуточных веществ (гидропероксида люминола и эндопероксида люминола) образуется молекула конечного продукта окисления люминола, аминокеталевой кислоты, в электронно-возбужденном состоянии, которая высвечивает фотон, и в результате наблюдается хемилюминесценция [9]. Интенсивность ХЛ пропорциональна скорости образования фотонов, а она, в свою очередь, пропорциональна стационарной концентрации  $\text{LH}\cdot$  в системе. Взаимодействуя с радикалами, антиоксиданты прерывают описанную цепочку превращений и препятствуют образованию фотона.

Соединения, подверженные термолузу, — не единственный возможный источник радикалов при анализе антиоксидантной емкости образца хемилюминесцентным методом. Альтернативами являются системы пероксидазы хрена–перекись водорода [13, 16], гемин–пероксид водорода [8], цитохром с–кардиолипин–пероксид водорода [11] и др. Схема реакций окисления люминола пероксидазами рассмотрена в работе Cormier и соавт. [17].

Кинетические кривые ХЛ для этих систем отражают две стадии реакции: стадию увеличения интенсивности ХЛ и стадию плато или постепенного спада свечения, когда

интенсивность ХЛ либо постоянна, либо медленно снижается. В работе [15] описаны два подхода к измерению общей антиоксидантной емкости, учитывающие эту особенность кривых. Метод TRAP (Total Reactive Antioxidant Potential) основан на измерении латентного периода ХЛ  $\tau$  и может быть использован для определения таких антиоксидантов, как тролокс или аскорбиновая кислота: они характеризуются высоким значением константы скорости реакции с радикалами и по этой причине могут быть названы сильными антиоксидантами [11]. В течение латентного периода происходит их полное окисление. Методом TAR (Total Antioxidant Reactivity) измеряют степень тушения хемилюминесценции  $q$  на плато или в максимуме хемилюминесцентной кривой:

$$q = \frac{(I - I_1)}{I},$$

где  $I$  — интенсивность хемилюминесценции без антиоксиданта, а  $I_1$  — интенсивность ХЛ в присутствии антиоксиданта. Этот метод используется, если в системе присутствуют преимущественно слабые антиоксиданты с низкими константами скорости взаимодействия с радикалами — намного более низкими в сравнении с константой люминола [11].

Действие антиоксидантов характеризуют не только показателями  $\tau$  и  $q$ . Как видно из работ [8, 11], действие таких антиоксидантов, как мочевиная кислота в системе гемин– $\text{H}_2\text{O}_2$ –люминол или токоферол, рутин и кверцетин в системе цитохром с–кардиолипин– $\text{H}_2\text{O}_2$ –люминол, характеризуется изменением максимальной скорости нарастания ХЛ ( $v_{\text{max}}$ ). Как показывают результаты математического моделирования кинетики, значения констант скорости взаимодействия этих антиоксидантов с радикалами близки к значению константы люминола, поэтому такие антиоксиданты могут быть названы антиоксидантами средней силы [11].

Если бы изучаемый материал, в частности растительное сырье, содержал только один тип антиоксидантов, то их содержание можно было бы характеризовать одним из трех перечисленных выше показателей ( $\tau$ ,  $q$  или  $v_{\text{max}}$ ). Но в растительном сырье содержится смесь антиоксидантов разной силы. Чтобы решить эту проблему, некоторые авторы [8, 18–20] использовали изменение светосуммы хемилюминесценции за определенное время  $\Delta S$ , рассчитанное по формуле

$$\Delta S = \Delta S_0 - \Delta S_s,$$

где  $\Delta S_0$  и  $\Delta S_s$  — светосуммы ХЛ за заданное время  $t$  в контрольном и исследуемом образцах соответственно. Время должно быть достаточным для окисления всех антиоксидантов в системе, то есть для выхода кривой ХЛ исследуемого образца на уровень кривой ХЛ контрольного образца. Последнее предполагает, что исследователи должны не только регистрировать светосумму свечения, но и записывать кривую кинетики ХЛ в течение достаточно длительного времени, что делают далеко не всегда.

Поскольку все измеряемые показатели зависят от прибора и условий измерения, антиоксидантный эффект вещества в исследуемой системе обычно сравнивают с эффектом антиоксиданта, принятого за стандарт, например тролокса [8, 21].

Система пероксидазы хрена–пероксид водорода применялась для анализа общей антиоксидантной емкости растительного сырья многими авторами. В работах [22, 23] для оценки количества антиоксидантов в образцах использовали латентный период ХЛ (метод TRAP), а в работах [18–20] — площадь под кривой развития ХЛ. Однако в перечисленных работах не дано четкого обосно-

вания выбора того или иного параметра для оценки ОАЕ.

Целью исследования было определить, как соотношение антиоксидантов различного типа влияет на ОАЕ, и модифицировать метод хемилюминесценции таким образом, чтобы иметь возможность точнее определять ОАЕ в растительном сырье. Для этого мы поставили перед собой несколько задач. Во-первых, сравнить кинетику ХЛ исследуемых объектов с кинетикой стандартных антиоксидантов трех типов (сильного, среднего и слабого), чтобы понять, антиоксиданты какого типа вносят основной вклад в ОАЕ исследуемых объектов. Во-вторых, рассчитать ОАЕ исследуемых объектов, измерив уменьшение светосуммы ХЛ под действием этих объектов в сравнении с действием антиоксиданта, обеспечивающего наибольший вклад в ОАЕ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования были промышленные образцы плодов боярышника, рябины и шиповника производства АО «Красногорсклексредства» (Россия), а также плоды малины, собранные авторами на территории Московской области в условиях естественного произрастания и высушенные при температуре 60–80 °С до прекращения выделения ими сока и деформации при надавливании.

Реактивами для анализа антиоксидантной емкости хемилюминесцентным методом служили:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 20 мМ буферный раствор (рН 7,4); пероксидаза из корней хрена (активность 112 ед./мг,  $M = 44\,173,9$ ), 1 мМ водный раствор; люминол (5-амино-1,2,3,4-тетрагидро-1,4-фталазиндион, гидразид 3-аминофталево́й кислоты,  $M = 177,11$ ), 1 мМ водный раствор; пероксид водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $M = 34,01$ ), 1 мМ водный раствор; растворы антиоксидантов (аскорбиновой кислоты, кверцетина, токоферола). Все реагенты — производства фирмы Sigma Aldrich (США).

Отвары плодов боярышника, рябины и шиповника и настоек плодов малины готовили по методике Государственной фармакопеи СССР, изложенной в общей фармакопейной статье «Настои и отвары» [24].

Определение общей антиоксидантной емкости проводили путем регистрации хемилюминесценции на хемилюминометре Lum-100 («ДИСофт», Россия) с использованием программного обеспечения PowerGraph 3.3. Для определения ОАЕ в растительном сырье в кювету прибора помещали 40 мкл люминола в концентрации 1 мМ, 40 мкл пероксидазы хрена в концентрации 0,1 мкМ, от 10 до 50 мкл отвара или настоя (в зависимости от концентрации) и фосфатный буфер в количестве, необходимом для доведения общего объема пробы до 1 мл. Кювету устанавливали в прибор и регистрировали ХЛ, наблюдая фоновый сигнал. По истечении 48 с регистрации фонового сигнала в кювету вносили 100 мкл  $\text{H}_2\text{O}_2$  в концентрации 1 мМ и продолжали регистрацию ХЛ в течение 10 мин. Готовили по четыре пробы с различной концентрацией каждого из растительных объектов. Регистрировали также ХЛ для растворов аскорбиновой кислоты, кверцетина и токоферола в пяти различных концентрациях для каждого из антиоксидантов. В дальнейшем ОАЕ образцов отваров и настоев пересчитывали на кверцетин.

Концентрации люминола, пероксидазы хрена и перекиси водорода были подобраны так, чтобы определять антиоксидантную емкость водных извлечений из лекарственного растительного сырья за приемлемое время (не более 10 мин). За это время кривые хемилюминесценции для антиоксидантов аскорбата и флавоноида кверцетина (основные антиоксиданты растительного сырья)

выходили на плато, что указывало на полное разрушение антиоксидантов в системе. Разведения исследуемых образцов и концентрации растворов стандартных антиоксидантов (указаны в подписях к рисункам) подбирали таким образом, чтобы все кинетические кривые ХЛ были измерены при одной и той же чувствительности прибора.

Антиоксидантную емкость рассчитывали по изменению площади ( $\Delta S$ ) под кинетической кривой хемилюминесценции (светосуммы) при добавлении вещества, содержащего антиоксидант. Для этого подсчитывали  $S_0$  для системы без антиоксиданта и вычитали из нее площадь  $S_1$ , характеризующую систему, в которую был добавлен антиоксидант. Величина  $\Delta S$  зависит от чувствительности хемилюминометра и условий измерения. Отношение  $\Delta S/C \cdot V$  (где  $C$  — концентрация исследуемого биологического материала в кювете, г/л, и  $V$  — объем кюветы, л) выражает антиоксидантную емкость 1 г изучаемого материала, т. е. растительного сырья.

Аналогичным образом рассчитывали антиоксидантную емкость  $\Delta S_A$  раствора стандартного антиоксиданта, например кверцетина, помещенного в тот же объем реакционной смеси. Отношение  $\Delta S_A/C_A \cdot V$  (где  $C_A$  — весовая концентрация антиоксиданта в кювете, г/л) выражает антиоксидантную емкость 1 г антиоксиданта.

Для каждого из стандартных антиоксидантов регистрировали сигнал от растворов нескольких концентраций, чтобы убедиться в том, что расчеты ведутся в пределах линейной зависимости, а полученные результаты воспроизводимы. Действительно, была получена линейная зависимость ( $\Delta S_A = k_A \cdot C_A$ ) сигнала от концентрации, по которой рассчитали стехиометрический коэффициент  $k_A$ . По критерию Фишера полученные для стандартных антиоксидантов значения  $k_A$  статистически значимы с вероятностью 0,975. Далее регистрировали сигнал от четырех концентраций для каждого из четырех растительных образцов, и для всех образцов получили линейную зависимость сигнала от концентрации ( $\Delta S = k \cdot C$ ), по которой рассчитали стехиометрический коэффициент  $k$ . С вероятностью 0,975 (критерий Фишера) полученные для растительных образцов значения  $k$  статистически значимы. Общую антиоксидантную емкость растительного материала в пересчете на массу стандартного антиоксиданта (мг%) находили по формуле

$$\text{ОАЕ} = \frac{k}{k_A} \cdot 10^5.$$

Значения были представлены как среднее арифметическое  $\pm$  среднеквадратическое отклонение ( $M \pm \delta$ ) при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

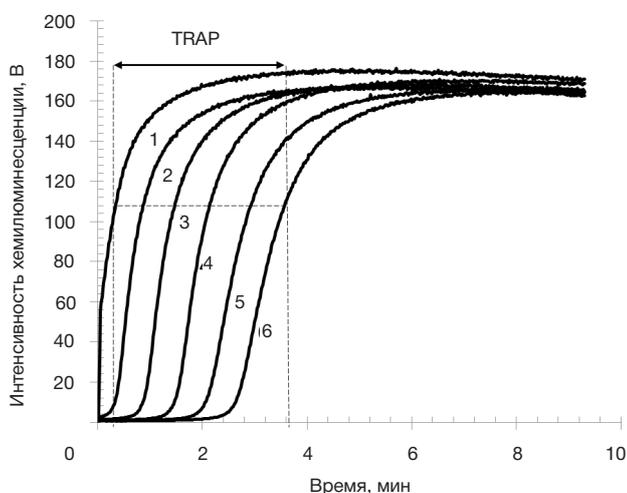
Изучение кинетики хемилюминесценции в присутствии аскорбата натрия (рис. 1) показало, что для этого антиоксиданта характерен латентный период, когда ХЛ практически полностью подавлена. Его продолжительность пропорциональна количеству антиоксиданта в системе. При этом не изменяется ни наклон кривых ХЛ, ни интенсивность ХЛ на плато. Это объясняется тем, что аскорбиновая кислота — сильный антиоксидант, перехватывающий все радикалы, образующиеся в системе, в том числе радикалы люминола, и ХЛ не развивается до тех пор, пока не окислится весь аскорбат.

Действие токоферола (рис. 2) проявлялось снижением интенсивности ХЛ на плато, что характерно для слабых антиоксидантов, хотя токоферол считается одним из самых

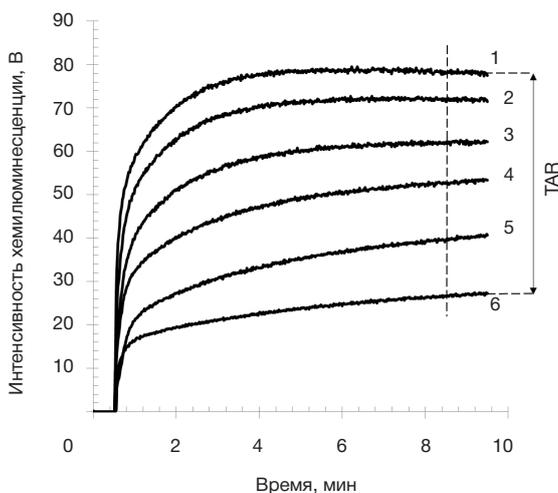
мощных антиоксидантов. Возможно, такое несоответствие связано с тем, что в нашем опыте свободные радикалы находились в водном растворе, тогда как обычно действие токоферола изучают в неполярных средах. В работе [11], где источником радикалов служил комплекс цитохрома с с кардиолипином и реакция с люминолом протекала в пределах этого комплекса, токоферол имел свойства антиоксиданта средней силы.

Изучив действие различных концентраций кверцетина на нашу систему (рис. 3) и сравнив кинетические кривые для него и аскорбата натрия и токоферола, можно отметить, что основное действие кверцетина проявляется в изменении угла наклона кривых, т. е. скорости развития ХЛ, что типично для антиоксидантов средней силы.

Кривые ХЛ для всех изучаемых отваров (рис. 4) напоминают кривые для кверцетина с незначительным снижением интенсивности ХЛ в конце, т. е. при выходе на



**Рис. 1.** Влияние аскорбата натрия на кинетику хемилюминесценции  
Концентрации компонентов системы: люминол — 40 мкМ, пероксидаза хрена — 4 нМ, пероксид водорода — 100 мкМ. Кривые: 1 — контрольный образец; 2 — 0,05 мкМ; 3 — 0,10 мкМ; 4 — 0,15 мкМ; 5 — 0,2 мкМ; 6 — 0,25 мкМ аскорбата натрия.



**Рис. 2.** Влияние токоферола на кинетику хемилюминесценции  
Концентрации компонентов системы: люминол — 40 мкМ, пероксидаза хрена — 4 нМ, пероксид водорода — 100 мкМ. Кривые: 1 — контрольный образец; 2 — 0,01 мкМ; 3 — 0,025 мкМ; 4 — 0,06 мкМ; 5 — 0,1 мкМ; 6 — 0,2 мкМ токоферола.

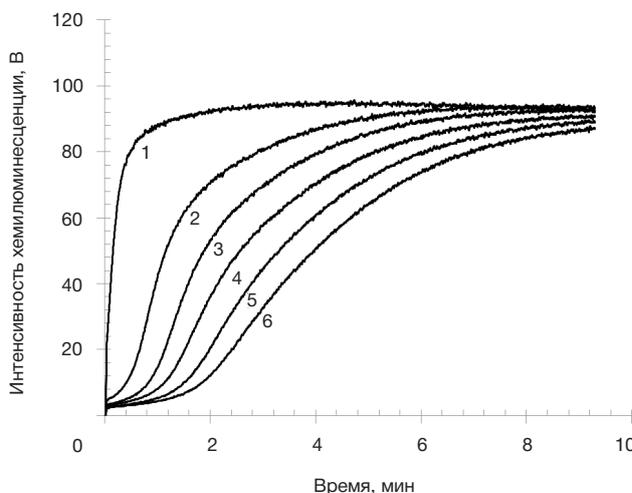
плато. Как показано в работе [11], такое поведение характерно для антиоксидантов средней силы, к которым в нашем случае можно отнести полифенолы — флавоноиды и дубильные вещества. Для настоя из плодов малины (рис. 4, Г) заметно снижение хемилюминесценции на уровне плато, что характерно для слабых антиоксидантов [11], каким в данном случае является токоферол. В пересчете на кверцетин и токоферол в настое плодов малины содержится  $4,7 \pm 0,9$  мкмоль/г кверцетина и  $11,9 \pm 0,8$  мкмоль/г токоферола.

При сравнении кривых хемилюминесценции, полученных для различных концентраций четырех исследуемых водных извлечений из растительного сырья, показано, что вклад средних и слабых антиоксидантов в общую антиоксидантную емкость образцов снижался в ряду: настой плодов малины (рис. 4, Г), отвар плодов шиповника (рис. 4, В), отвар плодов рябины (рис. 4, А), отвар плодов боярышника (рис. 4, Б). Значения  $\Delta S$  в расчете на концентрацию  $C$  изучаемого вещества в кювете и значения общей антиоксидантной емкости в пересчете на кверцетин приведены в таблице.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные в ходе экспериментов данные и рассчитанные на их основе величины ОАЕ изучаемых объектов были сопоставлены с содержанием в них основных антиоксидантов, определенных с помощью химических методов анализа [25–29]. Несмотря на то, что положительная корреляция между суммарным количеством антиоксидантов и ОАЕ в разных объектах несомненна, все же между этими показателями имеются заметные различия. Например, если взять сумму содержания флавоноидов, дубильных веществ и аскорбиновой кислоты, то она оказывается больше рассчитанной ОАЕ для всех изучаемых объектов, кроме отвара плодов боярышника (таблица).

Другими исследователями также показано, что результаты химического анализа и значение ОАЕ, определенное хемилюминесцентным методом, часто не совпадают. В работе [19] общая антиоксидантная емкость, определенная



**Рис. 3.** Влияние кверцетина на кинетику хемилюминесценции  
Концентрации компонентов системы: люминол — 40 мкМ, пероксидаза хрена — 4 нМ, пероксид водорода — 100 мкМ. Кривые: 1 — контрольный образец; 2 — 0,02 мкМ; 3 — 0,03 мкМ; 4 — 0,04 мкМ; 5 — 0,05 мкМ; 6 — 0,06 мкМ кверцетина.

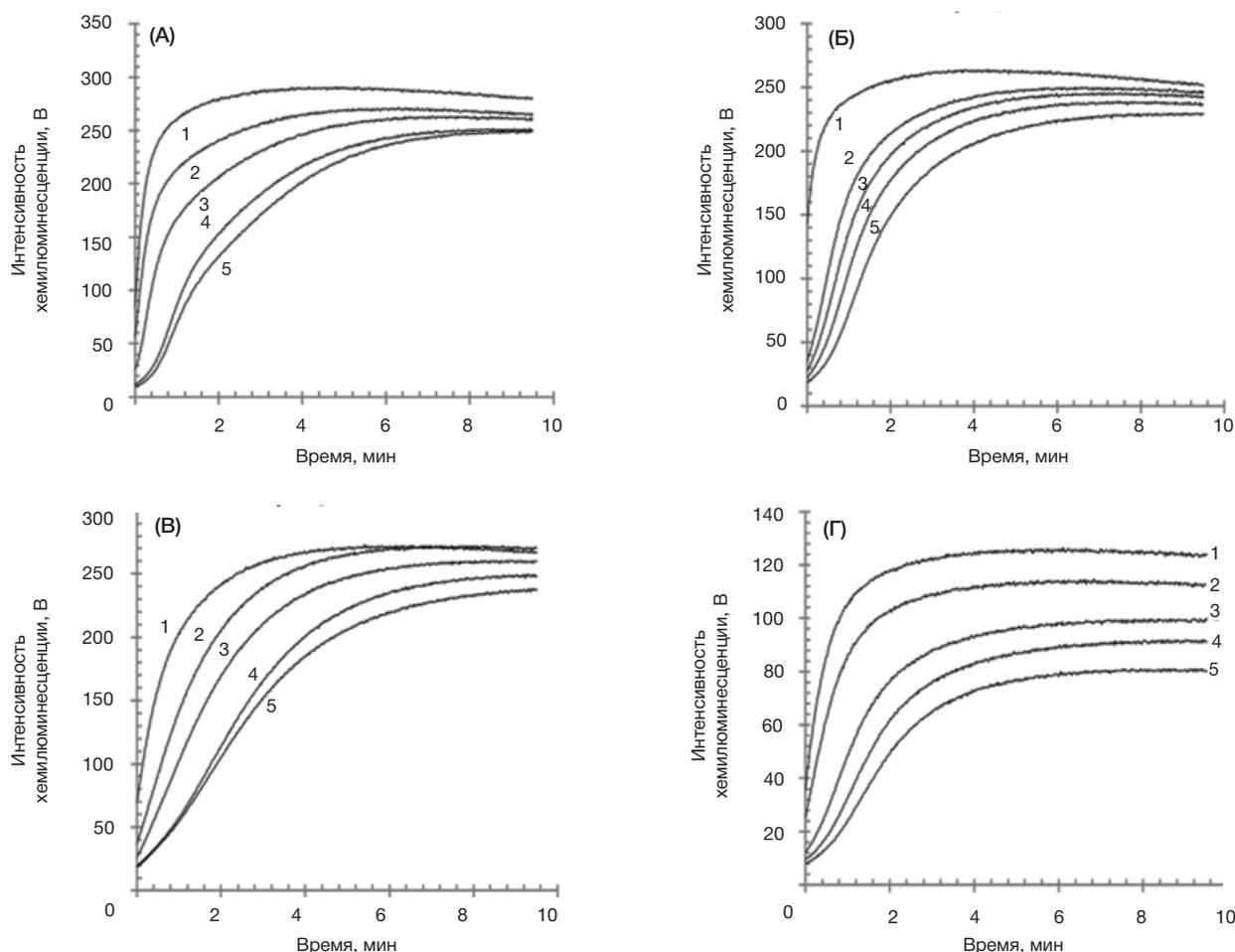


Рис. 4. Влияние отваров плодов рябины (А), боярышника (Б), шиповника (В) и настоя из плодов малины (Г) на кинетику хемилюминесценции

Концентрации компонентов системы: люминол — 40 мкМ, пероксидаза хрена — 4 нМ, пероксид водорода — 100 мкМ. (А) Кривые: 1 — контрольный образец; 2 — 0,002 г/л; 3 — 0,004 г/л; 4 — 0,006 г/л; 5 — 0,008 г/л отвара плодов рябины. (Б) Кривые: 1 — контрольный образец; 2 — 0,005 г/л; 3 — 0,0075 г/л; 4 — 0,01 г/л; 5 — 0,0125 г/л отвара плодов боярышника. (В) Кривые: 1 — контрольный образец; 2 — 0,001 г/л; 3 — 0,0015 г/л; 4 — 0,002 г/л; 5 — 0,0025 г/л отвара плодов шиповника. (Г) Кривые: 1 — контрольный образец; 2 — 0,001 г/л; 3 — 0,003 г/л; 4 — 0,004 г/л; 5 — 0,005 г/л настоя плодов малины.

в системе пероксидаза–люминол–перекись водорода коррелировала с содержанием тритерпеновых соединений. Однако в работе тех же авторов [18], в которой объектом исследования было другое растение, не наблюдали корреляции ОАЕ с содержанием какой-либо группы веществ, в том числе флавоноидов.

Подобные расхождения связаны по меньшей мере с тремя факторами. Во-первых, имеет значение активность антиоксидантов, т. е. скорость их взаимодействия с радикалами, которая различна для разных антиоксидантов, входящих в состав растительного образца. По данным Измайлова [11], константы скорости соответствующих реакций для мексидола, токоферола и кверцетина соотносятся как 0,04 : 2 : 60. Во-вторых, каждая молекула антиоксиданта, вступая в химическую реакцию, может перехватить различное количество радикалов. По данным работы [8], кверцетин, мочевиная и аскорбиновая кислоты перехватывали 3,6 ± 0,1, 1,4 ± 0,1 и 0,5 ± 0,2 радикалов на одну прореагировавшую молекулу антиоксиданта соответственно (использовалась система гемин–Н<sub>2</sub>O<sub>2</sub>–люминол). В-третьих, на результаты исследования могло оказать влияние наличие пероксидазной активности у самих растительных образцов, как в работе [23], а также наличие в образцах кальция, который, как это показано в работе [30], способен в определенных условиях повышать активность пероксидазы хрена. Обычно это обуславливает более вы-

сокую интенсивность ХЛ на плато, чем на контрольных кривых, чего мы, однако, не наблюдали.

Первый фактор резко ограничивает применение такого параметра, как изменение светосуммы, так как время измерения хемилюминесценции должно быть больше времени расходования всех антиоксидантов в исследуемом образце. О наступлении этого момента можно судить, только измеряя кинетику хемилюминесценции. Кроме того, вклад слабых антиоксидантов в ОАЕ резко занижен, поскольку время их полного окисления во много раз превышает приемлемую продолжительность измерения (10–20 мин).

Еще большее значение имеет стехиометрический коэффициент антиоксиданта. Количество радикалов  $n$ , перехватываемое им, равно

$$n = \rho \cdot \Delta t,$$

где  $\rho$  — стехиометрический коэффициент, а  $\Delta t$  — изменение концентрации антиоксиданта за время измерения, в нашем случае — исходная концентрация исследуемого вещества в опытной пробе.

Разница в светосумме свечения в отсутствие антиоксиданта и в его присутствии пропорциональна  $n$ . Суммарное число перехваченных радикалов равно

$$n = \sum_i \rho_i \cdot m_i,$$

где  $\rho_i$  — стехиометрический коэффициент конкретного антиоксиданта, а  $m_i$  — его концентрация во время изме-

Содержание антиоксидантов в растительном сырье по данным химического анализа и общая антиоксидантная емкость тех же объектов,  $M \pm \delta$

Объект исследования	Флавоноиды, мг%*	Дубильные вещества, мг%*	Аскорбиновая кислота, мг%*	$\Delta S/C \cdot 10^{-8}$ , усл. ед.	ОАЕ, мг% кверцетина
Отвар плодов рябины	8,87 ± 0,01	210,00 ± 10,00	0,67 ± 0,02	7,13 ± 0,96	56,53 ± 7,61
Отвар плодов шиповника	4,66 ± 0,04	850,00 ± 20,00	3,70 ± 0,12	16,60 ± 3,40	131,63 ± 27,26
Отвар плодов боярышника	3,01 ± 0,06	12,00 ± 3,00	0,23 ± 0,002	3,18 ± 0,29	25,20 ± 2,32
Настой высушенных плодов малины	90,00 ± 4,00	40,00 ± 20,00	3,91 ± 0,08	6,65 ± 1,21	52,69 ± 9,56

**Примечание:** \* — литературные данные, [25–29].  $\Delta S$  — изменение светосуммы для образца, отн. ед.,  $C$  — концентрация образца в кювете, г/л. Рассчитанные значения достоверны при  $p < 0,05$ . Число измерений для каждого образца — четыре.

рения. Суммарное число перехваченных радикалов заведомо не равно суммарному количеству антиоксидантов, поскольку коэффициенты  $p_i$  не только не равны единице, но и существенно отличаются для разных антиоксидантов.

Величина  $n$  пропорциональна разнице светосумм, измеренных за определенное время между образцом, содержащим антиоксидант, и контрольным образцом, не содержащим антиоксидантов:

$$S = k \cdot n,$$

где  $k$  — коэффициент, постоянный при одинаковых условиях измерения.

Рассмотренный в статье метод позволяет определить общую антиоксидантную емкость, тогда как химический анализ позволяет определить суммарное содержание антиоксидантов в продукте. Поэтому метод хемилюминесценции представляется информативнее химических анализов.

## ВЫВОДЫ

Подобранные нами условия оценки общей антиоксидантной емкости растительного сырья методом регистрации кинетики хемилюминесценции в системе, состоящей из пероксида водорода и люминола (концентрации компонентов — 4 нМ, 100 мкМ и 40 мкМ соответственно; 20 мМ фосфатный буфер, рН 7,4),

обеспечили окисление сильных антиоксидантов (аскорбиновая кислота) и антиоксидантов средней силы (кверцетин) за 10 мин. Такая продолжительность измерения удобна и обеспечивает требуемое качество измерений.

Анализ кинетики хемилюминесценции показал, что в изученных объектах (отварах плодов рябины, шиповника, боярышника и настое плодов малины) основными антиоксидантами являются антиоксиданты средней силы, в том числе флавоноиды, и слабой силы (токоферол и др.). На основе уменьшения светосуммы хемилюминесценции была рассчитана общая антиоксидантная емкость для изученных объектов. Сравнение полученных значений ОАЕ с результатами химического анализа показало, что продукты, содержащие одно и то же количество антиоксидантов с разным их соотношением, могут различаться по своей способности эффективно защищать организм от вредного воздействия свободных радикалов. Описанная методика перспективна для изучения растительных объектов, в которых содержится смесь различных антиоксидантов. При этом она отличается простотой и невысокой стоимостью исследования. Сочетание измерения кинетики хемилюминесценции с математическим моделированием реакций позволит не только автоматизировать процесс определения ОАЕ, но и определять вклад отдельных групп антиоксидантов в показатель.

## Литература

1. Проскурнина Е. В., Владимиров Ю. А. Свободные радикалы как участники регуляторных и патологических процессов. В сб.: Григорьев А. И., Владимиров Ю. А., редакторы. Фундаментальные науки — медицине. Биофиз. мед. технол. М.: МАКС Пресс; 2015. т. 1. с. 38–71.
2. Chanda S, Dave R. In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *Afr J Microbiol Res.* 2009 Dec; 3 (13): 981–96.
3. Хасанов В. В., Рыжова Г. Л., Мальцева Е. В. Методы исследования антиоксидантов. *Хим. раст. сырья.* 2004; (3): 63–75.
4. Васильев Р. Ф., Кънчева В. Д., Федорова Г. Ф., Бътовска Д. И., Трофимов А. В. Антиоксидантная активность халконов. Хемилюминесцентное определение реакционной способности и квантово-химический расчет энергий и строения реагентов и интермедиатов. *Кинетика и катализ.* 2010; 51 (4): 533–41.
5. Slavova-Kazakova AK, Angelova SE, Vepintsev TL, Denev P, Fabbri D, Dettori MA, et al. Antioxidant potential of curcumin-related compounds studied by chemiluminescence kinetics, chain-breaking efficiencies, scavenging activity (ORAC) and DFT calculations. *Beilstein J Org Chem.* 2015 Aug 11; 11: 1398–411.
6. Fedorova GF, Trofimov AV, Vasil'ev RF, Vepintsev TL. Peroxy-radical-mediated chemiluminescence: mechanistic diversity and fundamentals for antioxidant assay. *Arkivoc.* 2007; 8: 163–215.
7. Fedorova GF, Menshov VA, Trofimov AV, Vasil'ev RF. Facile chemiluminescence assay for antioxidative properties of vegetable lipids: fundamentals and illustrative examples. *Analyst.* 2009 Oct; 134 (10): 2128–34.
8. Bastos EL, Romoff P, Eckert CR, Baader WJ. Evaluation of antiradical capacity by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-hemin-induced luminol chemiluminescence. *J Agric Food Chem.* 2003 Dec 3; 51 (25): 7481–8.
9. Владимиров Ю. А., Проскурнина Е. В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция. *Успехи биол. хим.* 2009; 49: 341–88.
10. Владимиров Ю. А., Проскурнина Е. В., Измайлов Д. Ю. Кинетическая хемилюминесценция как метод изучения реакций свободных радикалов. *Биофизика.* 2011; 56 (6): 1081–90.
11. Измайлов Д. Ю., Демин Е. М., Владимиров Ю. А. Определение активности антиоксидантов методом измерения кинетики хемилюминесценции. *Фотобиология и фотомедицина.* 2011; 7 (2): 70–6.
12. Lissi EA, Pascual C, Del Castillo MD. Luminol luminescence induced by 2,2'-Azo-bis(2-amidinopropane) thermolysis. *Free*

- Radic Res Commun. 1992; 17 (5): 299–311.
13. Lissi EA, Pascual C, Del Castillo MD. On the use of the quenching of luminol luminescence to evaluate SOD activity. *Free Radic Biol Med.* 1994 Jun; 16 (6): 833–7.
  14. Lissi EA, Escobar J, Pascual C, Del Castillo MD, Schmitt TH, Di Mascio P. Visible chemiluminescence associated with the reaction between methemoglobin or oxyhemoglobin with hydrogen peroxide. *Photochem Photobiol.* 1994 Nov; 60 (5): 405–11.
  15. Lissi EA, Salim-Hanna M, Pascual C, Del Castillo MD. Evaluation of total antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity from luminol-enhanced chemiluminescence measurements. *Free Radic Biol Med.* 1995 Feb; 18 (2): 153–8.
  16. Landi-Librandi AP, de Oliveira CA, Azzolini AE, Kabeya LM, Del Ciampo JO, Bentley MV, et al. In vitro evaluation of the antioxidant activity of liposomal flavonols by the HRP-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-luminol system. *J Microencapsul.* 2011; 28 (4): 258–67.
  17. Cormier MJ, Prichard PM. An investigation of the mechanism of the luminescent peroxidation of luminol by stopped flow techniques. *J Biol Chem.* 1968 Sep 25; 243 (18): 4706–14.
  18. Chang CL, Lin CS, Lai GH. Phytochemical characteristics, free radical scavenging activities, and neuroprotection of five medicinal plant extracts. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012; 2012: 984295. doi: 10.1155/2012/984295. Epub 2011 Aug 10.
  19. Chang CL, Lin CS. Phytochemical composition, antioxidant activity, and neuroprotective effect of Terminalia chebula Retzius extracts. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012; 2012: 125247. doi: 10.1155/2012/125247. Epub 2011 Jul 5.
  20. Georgetti SR, Casagrande R, Di Mambro VM, Azzolini AE, Fonseca MJ. Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *AAPS PharmSci.* 2003; 5 (2): 111–5.
  21. Алексеев А. В., Проскурнина Е. В., Владимиров Ю. А. Определение антиоксидантов методом активированной хемилуминесценции с использованием 2,2'-азо-бис(2-амидинопропана). *Вестн. МГУ. Сер. 2. Хим.* 2012; 53 (3): 187–93.
  22. Pogačnik L, Ulrich NP. Application of optimized chemiluminescence assay for determination of the antioxidant capacity of herbal extracts. *Luminescence.* 2012 Nov–Dec; 27 (6): 505–10.
  23. Saleh L, Plieth C. Total low-molecular-weight antioxidants as a summary parameter, quantified in biological samples by a chemiluminescence inhibition assay. *Nat Protoc.* 2010 Sep; 5 (10): 1627–34.
  24. Министерство здравоохранения СССР. Государственная фармакопея СССР. XI изд. Вып. 2 «Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье». М.: Медицина; 1987. с. 147–8.
  25. Сергунова Е. В., Сорокина А. А., Корнюшина М. А. Изучение экстракционных препаратов шиповника. *Фармация.* 2012; (2): 14–6.
  26. Сергунова Е. В., Сорокина А. А., Аврач А. С. Изучение плодов боярышника различными способами консервации и водных извлечений. *Фармация.* 2010; (5): 16–8.
  27. Аврач А. С., Сергунова Е. В., Куксова Я. В. Биологически активные вещества плодов и водных извлечений малины обыкновенной. *Фармация.* 2014; (1): 8–10.
  28. Аврач А. С., Самылина И. А., Сергунова Е. В. Изучение биологически активных веществ плодов боярышника — сырья для приготовления настоек гомеопатических матричных. В сб. науч. тр. по материалам XXIV Моск. междунар. гомеопат. конф. «Развитие гомеопатического метода в современной медицине»; 24–25 января 2014 г.; Москва. М.; 2014. с. 146–7.
  29. Сергунова Е. В., Сорокина А. А. Изучение состава биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье различными способами консервации. В сб. тезисов по материалам XX Росс. нац. конгр. «Человек и лекарство»; 15–19 апреля 2013 г.; Москва. М.: ЭкОонис; 2013. с. 184–90.
  30. Александрова Е. Ю., Орлова М. А., Нейман П. Л. Изучение пероксидазной активности в экстрактах из корневища и корней хрена и ее стабильности к различным воздействиям. *Вестн. МГУ. Сер. 2. Хим.* 2006; 47 (5): 350–2.

## References

1. Proskurnina EV, Vladimirov YuA. Svobodnye radikaly kak uchastniki regulatorynykh i patologicheskikh protsessov. In: Grigor'ev AI, Vladimirov YuA, editors. *Fundamental'nye nauki — meditsine. Biofizicheskie meditsinskie tekhnologii.* Moscow: MAKS Press; 2015. v. 1. p. 38–71. Russian.
2. Chanda S, Dave R. In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *Afr J Microbiol Res.* 2009 Dec; 3 (13): 981–96.
3. Khasanov VV, Ryzhova GL, Mal'tseva EV. Metody issledovaniya antioksidantov. *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja.* 2004; (3): 63–75. Russian.
4. Vasil'ev RF, K"ncheva VD, Fedorova GF, B"tovska DI, Trofimov AV. Antioksidantnaya aktivnost' khalkonov. *Khemilyuminestsentnoe opredelenie reaktsionnoi sposobnosti i kvantovo-khimicheskii raschet energii i stroeniya reagentov i intermediatov.* Kinetics and catalysis. 2010; 51 (4): 533–41. Russian.
5. Slavova-Kazakova AK, Angelova SE, Veprintsev TL, Denev P, Fabbri D, Dettori MA, et al. Antioxidant potential of curcumin-related compounds studied by chemiluminescence kinetics, chain-breaking efficiencies, scavenging activity (ORAC) and DFT calculations. *Beilstein J Org Chem.* 2015 Aug 11; 11: 1398–411.
6. Fedorova GF, Trofimov AV, Vasil'ev RF, Veprintsev TL. Peroxy-radical-mediated chemiluminescence: mechanistic diversity and fundamentals for antioxidant assay. *Arkivoc.* 2007; 8: 163–215.
7. Fedorova GF, Menshov VA, Trofimov AV, Vasil'ev RF. Facile chemiluminescence assay for antioxidative properties of vegetable lipids: fundamentals and illustrative examples. *Analyst.* 2009 Oct; 134 (10): 2128–34.
8. Bastos EL, Romoff P, Eckert CR, Baader WJ. Evaluation of antiradical capacity by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-hemin-induced luminol chemiluminescence. *J Agric Food Chem.* 2003 Dec 3; 51 (25): 7481–8.
9. Vladimirov YuA, Proskurnina EV. Svobodnye radikaly i kletochnaya khemilyuminestsentsiya. *Usp Biol Khim.* 2009; 49: 341–88. Russian.
10. Vladimirov YuA, Proskurnina EV, Izmailov DYU. Kineticheskaya khemilyuminestsentsiya kak metod izucheniya reaktsii svobodnykh radikalov. *Biophysics.* 2011; 56 (6): 1081–90. Russian.
11. Izmailov DYU, Demin EM, Vladimirov YuA. Opredelenie aktivnosti antioksidantov metodom izmereniya kinetiki khemilyuminestsentsii. *Fotobiologiya i fotomeditsina.* 2011; 7 (2): 70–6. Russian.
12. Lissi EA, Pascual C, Del Castillo MD. Luminol luminescence induced by 2,2'-Azo-bis(2-amidinopropane) thermolysis. *Free Radic Res Commun.* 1992; 17 (5): 299–311.
13. Lissi EA, Pascual C, Del Castillo MD. On the use of the quenching of luminol luminescence to evaluate SOD activity. *Free Radic Biol Med.* 1994 Jun; 16 (6): 833–7.
14. Lissi EA, Escobar J, Pascual C, Del Castillo MD, Schmitt TH, Di Mascio P. Visible chemiluminescence associated with the reaction between methemoglobin or oxyhemoglobin with hydrogen peroxide. *Photochem Photobiol.* 1994 Nov; 60 (5): 405–11.
15. Lissi EA, Salim-Hanna M, Pascual C, Del Castillo MD. Evaluation of total antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity from luminol-enhanced chemiluminescence measurements. *Free Radic Biol Med.* 1995 Feb; 18 (2): 153–8.
16. Landi-Librandi AP, de Oliveira CA, Azzolini AE, Kabeya LM, Del Ciampo JO, Bentley MV, et al. In vitro evaluation of the antioxidant activity of liposomal flavonols by the HRP-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-luminol system. *J Microencapsul.* 2011; 28 (4): 258–67.
17. Cormier MJ, Prichard PM. An investigation of the mechanism

- of the luminescent peroxidation of luminol by stopped flow techniques. *J Biol Chem.* 1968 Sep 25; 243 (18): 4706–14.
18. Chang CL, Lin CS, Lai GH. Phytochemical characteristics, free radical scavenging activities, and neuroprotection of five medicinal plant extracts. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012; 2012: 984295. doi: 10.1155/2012/984295. Epub 2011 Aug 10.
  19. Chang CL, Lin CS. Phytochemical composition, antioxidant activity, and neuroprotective effect of *Terminalia chebula* Retzius extracts. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012; 2012: 125247. doi: 10.1155/2012/125247. Epub 2011 Jul 5.
  20. Georgetti SR, Casagrande R, Di Mambro VM, Azzolini AE, Fonseca MJ. Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *AAPS PharmSci.* 2003; 5 (2): 111–5.
  21. Alekseev AV, Proskurnina EV, Vladimirov YuA. Opredelenie antioksidantov metodom aktivirovannoi khemilyuminestsentsii s ispol'zovaniem 2,2'-azo-bis(2-amidinopropana). *Moscow University Chemistry Bulletin.* 2012; 53 (3): 187–93. Russian.
  22. Pogačnik L, Ulrih NP. Application of optimized chemiluminescence assay for determination of the antioxidant capacity of herbal extracts. *Luminescence.* 2012 Nov–Dec; 27 (6): 505–10.
  23. Saleh L, Plieth C. Total low-molecular-weight antioxidants as a summary parameter, quantified in biological samples by a chemiluminescence inhibition assay. *Nat Protoc.* 2010 Sep; 5 (10): 1627–34.
  24. Ministerstvo zdravookhraneniya SSSR. Gosudarsvennaya farmakopeya SSSR. 11th ed. Iss. 2. "Obshchie metody analiza. Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e". Moscow: Meditsina; 1987. p. 147–8. Russian.
  25. Sergunova EV, Sorokina AA, Korniyushina MA. Izuchenie ekstraktsionnykh preparatov shipovnika. *Pharmacy.* 2012; (2): 14–6. Russian.
  26. Sergunova EV, Sorokina AA, Avrach AS. Izuchenie plodov boyaryshnika razlichnykh sposobov konservatsii i vodnykh izvlechenii. *Farmatsiya.* 2010; (5): 16–8. Russian.
  27. Avrach AS, Sergunova EV, Kuksova YaV. Biologicheski aktivnye veshchestva plodov i vodnykh izvlechenii maliny obyknovnoy. *Farmatsiya.* 2014; (1): 8–10. Russian.
  28. Avrach AS, Samylyina IA, Sergunova EV. Izuchenie biologicheski aktivnykh veshchestv plodov boyaryshnika — syr'ya dlya prigotovleniya nastoek gomeopaticheskikh matrichnykh. Proceedings of the 14th Moscow International Homeopathic Conference "Razvitie gomeopaticeskogo metoda v sovremennoi meditsine"; 2014 Jan 24–25; Moscow. M.; 2014. p. 146–7. Russian.
  29. Sergunova EV, Sorokina AA. Izuchenie sostava biologicheski aktivnykh veshchestv v lekarstvennom rastitel'nom syr'e razlichnykh sposobov konservatsii. Proceedings of the 20th Russian National Congress "Chelovek i lekarstvo"; 2013 Apr 15–19; Moscow. Moscow: EkOOnis; 2013. p. 184–90. Russian.
  30. Aleksandrova EYu, Orlova MA, Neiman PL. Izuchenie peroksidaznoi aktivnosti v ekstraktakh iz kornevishcha i kornei khrena i ee stabil'nosti k razlichnym vozdeistviyam. *Moscow University Chemistry Bulletin.* 2006; 47 (5): 350–2. Russian.