

Правительство Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(СПбГУ)

УДК 612.084

Рег. № НИОКТР АААА-А19-119092790061-9

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по научной работе

_____ С. В. Микушев
« ____ » _____ 2024 г.

ОТЧЕТ
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ
ЛАБОРАТОРИЯ НЕЙРОПРОТЕЗОВ
(заключительный)


Руководитель НИР:
Профессор,
д-р медицинских наук


_____ П.Е.Мусиенко

Санкт-Петербург 2024

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель НИР, профессор, д-р
мед.наук



20.11.24

подпись, дата

П.Е.Мусяенко
(реферат, введение,
раздел 1,4,5,
заключение)

Исполнители:

Вед.научн.сотрудник,
канд. биолог.наук


20.11.24

подпись, дата

Е.Ю. Шапкина
(раздел 3.1)


Научный сотрудник
канд. биолог.наук


20.11.24

подпись, дата

Д.С.Калинина
(раздел 3.1-3.3)


Научный сотрудник
канд. биолог.наук


20.11.24

подпись, дата

Н.В. Павлова
(раздел 2.2)


Инженер-исследователь
канд. биол. наук


20.11.24

подпись, дата

П.Ю. Шкорбатова
(раздел 2.2)

Инженер-исследователь


20.11.24

подпись, дата

Е.Ю. Баженова
(список литературы)

Инженер-исследователь


20.11.24

подпись, дата

О.В. Горский
(разделы 2.3)

Инженер-исследователь


20.11.24

подпись, дата

Е.Н. Владимирова
(список публикаций)

Инженер-исследователь


20.11.24

подпись, дата

Ю.И. Сысоев
(разделы 3.2-3.4)

Младший научный сотрудник


20.11.24

подпись, дата

Д.Р.Еникеев
(список литературы)

Лаборант-исследователь


20.11.24

подпись, дата

Д.Д.Шиц
(список литературы)

Лаборант-исследователь


20.11.24

подпись, дата

М.М.Пучик
(список литературы)

Нормоконтроль

подпись, дата

А.М.Буруруев

РЕФЕРАТ

Отчет 71 с., 11 рис., 1 табл., 106 источн.

НЕЙРОПРОТЕЗИРОВАНИЕ, ДВИГАТЕЛЬНЫЕ ФУНКЦИИ, ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДВИГАТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЯ

В ходе работы 6-го этапа проекта была разработана и протестирована система биомиметической нейростимуляции, способная транслировать близкую к натуральной информацию в неповрежденные отделы нервной системы. На основе математической модели механорецепторов были предложены биомиметические стратегии стимуляции, имитирующие активность различных афферентных единиц. Было проведена экспериментальная оценка новой парадигмы на животных моделях, исследованы соматосенсорные сети при стимуляции нерва и записи рефлекторных реакций в ганглиях дорсальных корешков и спинном мозге. Биомиметическая стимуляция приводила к активности нейронной сети, приближающейся по своей пространственно-временной динамике к естественной нормальной. Разработанная нейротехнологическая парадигма была реализована в бионическом устройстве и протестирована на пациентах, обеспечив в них большую мобильность и лучшую координацию по сравнению с традиционными подходами.

В других направлениях работ лаборатории продолжались нейрофизиологические, нейроморфологические и нейрофармакологические исследования, в которых изучались нейронные сети спинного и головного мозга, особенности их работы в норме и патологии. Были проведены серии экспериментов на нокаутных животных, в частности, нокаутных по генам дофаминового транспортера, триптофан-гидроксилазы 2 типа, а также рецепторам следовых аминов TAAR1 и TAAR5.

По результатам работы в 2024 г. лабораторией опубликовано 17 научных работ, из них 7 статей в рецензируемых изданиях WOS/Scopus общим IF=38,183, из которых 5 статей в журналах Q1-Q2; 7 РИНЦ; 3 Preprint

СОДЕРЖАНИЕ

ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ.....	6
ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	7
ВВЕДЕНИЕ.....	8
1 Материалы и методы.....	22
1.1 Моделирование тактильных афферентов, иннервирующих кожу стопы.....	22
1.2 Разработка метода биомиметической нейрональной стимуляции с помощью FootSim	22
1.3 Хирургические процедуры на животных	23
1.4 Электрофизиологические эксперименты на модели децеребрированной кошки.	23
1.5 Анализ нейрональной активности.....	24
1.6 Набор пациентов и хирургические процедуры.....	26
1.7 Интранейрональная стимуляция для вызова искусственных ощущений.....	27
1.8 Оценка естественности ощущений.....	28
1.9 Биомиметическая нейростимуляция в реальном времени в нейророботизированной ноге.....	29
1.10 Тестирование на лестнице.....	30
1.11 Двойная когнитивная задача.....	30
1.12 Оценка уверенности участников во время выполнения двигательной задачи.....	30
1.13 Статистический анализ.....	31
2. Результаты.....	31
2.1 Парадигмы биомиметической нейростимуляции, разработанные с использованием реалистичной <i>in silico</i> модели афферентов подошвы стопы (FootSim)	32
2.2 Передача нейростимуляционной динамики через соматосенсорную ось	34
2.3 Изменение способностей постурального контроля у крыс с небольшим и сильным дофаминовым истощением	36
2.4 Нейронная реакция, вызванная биомиметической стимуляцией, более схожа с естественной реакцией на механическую активность, чем реакция, вызванная тонической электрической стимуляцией	41
2.5 Биомиметическая нейростимуляция вызывает более естественные ощущения, чем небюимиметическая.....	44

3 Обсуждение.....	47
3.1 Многоуровневый подход к разработке стратегий стимуляции сведет к минимуму ощущения парестезии	47
3.2 Сравнение нейрональных реакций, индуцированных естественным прикосновением, и электрической стимуляцией нервов.....	47
3.3 Улучшение сенсорной обратной связи и функциональности в нейромодуляционных устройствах с использованием биомиметической стимуляции	49
3.4 Ограничения исследования.....	51
3.5 Использование структуры в будущих устройствах биомиметической нейростимуляции	52
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	53
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	58
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	66

ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящем отчете о НИР применяют следующие термины с соответствующими определениями:

- Биомиметическая стимуляция - стимуляция, способная имитировать нейронную активность сенсорных афферентов, иннервирующих подошвенную область человеческой стопы, в ответ на пространственно-временные деформации кожи.
- Децеребрация - перерезка головного мозга выше продолговатого (по передней границе четверохолмия), применяемая в опытах на животных при физиологических исследованиях. Позволяет изучать рефлекторную деятельность продолговатого и спинного мозга при отсутствии влияний со стороны промежуточного мозга и коры больших полушарий.
- Локальные полевые потенциалы - временные электрические сигналы, которые генерируются в нервах и других тканях в результате суммарной и синхронной электрической активности отдельных клеток (например, нейронов) в этой ткани.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящем отчете о НИР применяют следующие сокращения и обозначения:

ИМК	- интерфейсы мозг-компьютер
ПНС	- периферические соматические нервы
PSTH	- перистимульная временная гистограмма
DRG	- дорсальный корешковый ганглий
LFP	- локальные полевые потенциалы
АЦ	- активный центр
CSD	- плотность источника тока
FA	- быстрая адаптация
SA	- медленная адаптация
CDT	- когнитивная двойная задача

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания и повреждения спинного и головного мозга разного генеза (наследственные нейродегенеративные заболевания, пороки развития, опухоли, травмы и др.), сопровождающиеся параличами и тяжелыми висцеральными расстройствами, представляют собой комплексную медико-социальную проблему, решение или снижение бремени которой связано с огромными материальными затратами, как отдельных людей, так и государства. Целью работы по проекту является поиск новых подходов нейрореабилитации. Для достижения указанной цели решались задачи по созданию адекватных экспериментальных моделей, изучению нейронных сетей, выявлению ключевых функциональных и структурных нарушений и разработке соответствующих технологий восстановления. Исследования по проекту имеют большую социальную, медицинскую и экономическую значимость, как для Российской Федерации, так и для других стран.

В ходе работы первого этапа ИТВМ_2019 Лаборатория нейропротезов, рег.номер НИОКТР в ЦИТиС: АААА-А19-119092790061-9 и на всех последующих выполнялись нейрофизиологические, нейроморфологические и нейрофармакологические исследования, проводились работы по изучению нейронных сетей спинного и головного мозга, особенности их работы в норме и патологии, а также разрабатывались и апробировались новые биосовместимые нейроинтерфейсы для долгосрочного применения с целью мониторинга и активации нейронных путей в головном и спинном мозге. Проводились экспериментальные серии с нокаутными животными (нокаутными по дофаминовому транспортеру, триптофан-гидроксилазе 2 типа, а также рецепторам следовых аминов TAAR1 и TAAR2). В ходе выполнения первого этапа проекта получены нейрофизиологические данные о сомато-висцеральных и висцеро-соматических влияниях. Впервые выявлены особенности работы мочевого пузыря при пассивной ходьбе и локомоции, вызванной стимуляцией спинного мозга, а также зависимость его функциональной активности от вида двигательной активности. С использованием комбинации иммуногистохимических подходов (выявление нейронов, экспрессирующих c-fos, NO-синтазу, и Ca²⁺ связывающий белок кальретинин) установлено, что при ходьбе в активность действительно вовлекаются нейронные популяции, отвечающие за висцеральный контроль, а также показано распределение этих нейронов в сером веществе спинного мозга. Информация об интегративной активности сенсомоторных и висцеральных нейронных сетей, а также возможностях управления этими двумя системами при нарушении супраспинального контроля, позволит оптимизировать подходы к нейрореабилитации спинальных больных.

На втором этапе проекта ITBM_2019 Лаборатория нейропротезов, рег.номер НИОКТР в ЦИТиС: АААА-А19-119092790061-9 было показано, что быстрая печать мягких биосовместимых материалов возможна благодаря роботизированному нанесению маловязких проводящих чернил струйным принтером, экструзии изолирующих силиконовых паст и активации поверхностей электродов плазмой, и может быть использована для создания прототипов индивидуальных наборов электродов, адаптированных к конкретным анатомическим условиям, функциям и экспериментальным моделям. Печатные биоэлектронные интерфейсы обеспечивают долгосрочную интеграцию и функциональную стабильность, что было показано при помощи мониторинга и активации нейронных путей в головном и спинном мозге, а также в нервно-мышечной системе у кошек, крыс и рыб *Danio Rerio*. Эта технология может позволить персонализировать биоэлектронику для нейропротезирования.

В ходе работы 3-го этапа проекта ITBM_2019 Лаборатория нейропротезов рег.номер НИОКТР в ЦИТиС: АААА-А19-119092790061-9 изучалась роль рецепторов к следовым аминам в сенсомоторном контроле. Классические моноамины хорошо известны как модуляторы сенсомоторных нейронных сетей. Однако роль следовых аминов и их рецепторов в сенсомоторных функциях остается неизученной. У мышей с нокаутом гена, кодирующего рецептор к следовым аминам 5 типа (TAAR5-KO), экспрессирующих β -галактозидазу, показана локализация экспрессии TAAR5 в клетках Пуркинье мозжечка и медиальных вестибулярных ядер, что предполагает возможность участия TAAR5 в вестибулярном и моторном контроле. В различных поведенческих тестах мыши TAAR5-KO демонстрировали более низкую выносливость, но лучшую координацию и баланс по сравнению с контрольными животными дикого типа. Кроме того, показаны специфические изменения в мощности ритмов электрокортикограммы моторной коры и локальных полевых потенциалов (LFP) стриатума, а именно увеличение спектральной плотности мощности тета-ритма и уменьшение – дельта-ритма, соответственно. Полученные данные показывают, что TAAR5 играет значительную роль в регуляции поструральной стабильности, силы мышц, баланса и моторной координации во время активных движений, по-видимому модулируя моноаминергические системы на разных уровнях сенсомоторного контроля, включая различные области мозга, такие как ствол мозга, мозжечок и др. Учитывая специфические эффекты на опорно-двигательную систему, а также имеющиеся у нас данные об активации нейрогенеза у взрослых мышей TAAR5-KO, мы рассматриваем потенциальную возможность использования TAAR5-нацеленных препаратов в фармакотерапии нейромоторных расстройств, вызванных заболеваниями и травмами ЦНС, в т.ч. при мультисистемной нейрореабилитации с применением электро-химических

нейропротезов.

На 4-м этапе проекта ИТВМ_2019 Лаборатория нейропротезов рег.номер НИОКТР в ЦИТиС: АААА-А19-119092790061-9; номер ИКРБС в ЦИТиС: 222123000014-1 была разработана технология изготовления растяжимых биоинтегрированных нейрональных имплантов на основе углеродных нанотрубок (УНТ) и полидиметилсилоксана (ПДМС). Наиболее важной частью предлагаемой технологии является изготовление композитных материалов ПДМС-УНТ с высоким уровнем биосовместимости, длительной биостабильностью, прочностью на растяжение, высокими значениями емкости накопления заряда и нефарадеевским типом электродных процессов. Из полученных композитных материалов ПДМС-УНТ изготавливались растяжимые импланты для спинного мозга в сложных литейных формах. Механические, электрические и биологические свойства композитных материалов и нейрональных имплантов были охарактеризованы с использованием нескольких методов, таких как СЭМ, анализ EDXRF, механические испытания на растяжение, тесты на цитотоксичность и циклическая вольтамперометрия (CV). Кроме того, функциональные возможности растяжимых имплантов для спинного мозга на основе композитных материалов ПДМС-УНТ были изучены с помощью испытаний *in vivo* на лабораторных животных, что свидетельствует о высокой эффективности предлагаемой технологии для мониторинга и стимуляции нейрональной активности у млекопитающих.

В ходе работы 5-го этапа проекта ИТВМ_2019 Лаборатория нейропротезов рег.номер НИОКТР в ЦИТиС: АААА-А19-119092790061-9; номер ИКРБС в ЦИТиС: 222123000014-1 исследовалась роль дофамина в контроле двигательного поведения на модели ДАТ КО крыс. Нами проведена оценка локомоторной функции и мышечных ответов на постуральные нарушения у крыс с разным уровнем дофамина. Дофаминовое истощение у крыс сопровождалось тремором, общей скованностью движений и акинезией, а также вызывало преждевременную билатеральную обоюдную активацию сгибателей и разгибателей при горизонтальных смещениях. Экспериментальные данные раскрывают особую роль дофамина в постуральных реакциях, а использованный подход применим для оценки сенсомоторной регуляции при различных состояниях и заболеваниях, опосредованных изменением дофаминовой нейротрансмиссии. Полученные результаты могут быть использованы для разработки электрохимических нейропротезов для терапии нейромоторных заболеваний.

На завершающем, 6 этапе проекта ИТВМ_2019 Лаборатория нейропротезов рег.номер НИОКТР в ЦИТиС: АААА-А19-119092790061-9; номер ИКРБС в ЦИТиС: 222123000014-1, была разработана и протестирована система биомиметической

нейростимуляции, способная транслировать близкую к натуральной информацию в неповрежденные отделы нервной системы. На основе математической модели механорецепторов были предложены биомиметические стратегии стимуляции, имитирующие активность различных афферентных единиц. Было проведена экспериментальная оценка новой парадигмы на животных моделях, исследованы соматосенсорные сети при стимуляции нерва и записи рефлекторных реакций в ганглиях дорсальных корешков и спинном мозге. Биомиметическая стимуляция приводила к активности нейронной сети, приближающейся по своей пространственно-временной динамике к естественной нормальной. Разработанная нейротехнологическая парадигма была реализована в бионическом устройстве и протестирована на пациентах, обеспечив у них большую мобильность и лучшую координацию по сравнению с традиционными подходами.

Таким образом, в результате реализации проекта были предложены новые технологии изготовления мягких нейрональных имплантов, апробированные в экспериментальных сериях с использованием всевозможных животных моделей. Была изучена роль дофаминового транспортера, триптофан-гидроксилазы 2 типа, а также TAAR1 и TAAR5 в реализации сенсомоторных функций у грызунов, а также восстановлении после травм спинного мозга. Была разработана и апробирована в клинической практике система биомиметической нейромодуляции у ампутантов, усиливающая естественные ощущения прикосновения за счет стимуляции периферических нервов. Всего по проекту лабораторией опубликовано 101 статья в рецензируемых изданиях общим IF=255,683, из которых 43 статьи в журналах Q1-Q2.

Статьи Q1: 30

2019:

Merkulyeva N, Lyakhovetskii V, Veshchitskii A, Bazhenova E, Gorskii O, Musienko P. Activation of the spinal neuronal network responsible for visceral control during locomotion. *Exp Neurol*. 2019; 320:112986. doi: 10.1016/j.expneurol.2019.112986. (WOS, Scopus, РИНЦ, IF=4,691).

Barshutina MN, Kirichenko SO, Wodolajski VA, Musienko PE. Mechanisms of electrical conductivity in CNT/silicone composites designed for neural interfacing. *Materials Letters*. 2019. 236, 183-186. doi: 10.1016/j.matlet.2018.10.090 (WOS, Scopus, РИНЦ, IF=3,019).

Efimova EV, Merkulyeva N, Veshchitskii A, Katolikova NV, Rubets E, Mor MS, Leonova EI, Gainetdinov RR. Trace amine-associated receptors as 27 modulators of brain monoaminergic

systems. *Journal of Neurochemistr.* 2019 Aug; 150(S1), p 162–251, WTH02-03 (WOS, Scopus, РИИЦ, IF=4,87).

2020:

Sysoev Y, Bazhenova E, Lyakhovetskii V, Kovalev G, Shkorbatova P, Islamova R, Pavlova N, Gorskii O, Merkulyeva N, Shkarupa D, Musienko P. Site-specific neuromodulation of detrusor and external urethral sphincter by epidural spinal cord stimulation *Front. Syst. Neurosci.* 2020; 14:47. doi: 10.3389/fnsys.2020.00047 (Scopus/WoS/РИИЦ, IF=4.0).

Afanasenkau D, Kalinina D, Lyakhovetskii V, Tondera C, Gorsky O, Moosavi S, Pavlova N, Merkulyeva N, Kalueff A, Minev I, Musienko P. Rapid prototyping of soft bioelectronic implants for use as neuromuscular interfaces. *Nat Biomed Eng.* 2020; 4:1010–1022. DOI: 10.1038/s41551-020-00615-7 (Scopus/WoS/РИИЦ, IF=17.149).

Shkorbatova P, Lyakhovetskii V, Pavlova N, Popov A, Bazhenova E, Kalinina D, Gorskii O, Musienko P. Mapping of the Spinal Sensorimotor Network by Transvertebral and Transcutaneous Spinal Cord Stimulation *Front. Syst. Neurosci.* 2020; 14:74. DOI: 10.3389/fnsys.2020.555593 (Scopus/WoS/РИИЦ, IF=4.0).

Espinoza S, Sukhanov I, Efimova EV, Kozlova A, Antonova KA, Illiano P, Leo D, Merkulyeva N, Kalinina D, Musienko P, Rocchi A, Mus L, Sotnikova TD, Gainetdinov RR. Trace Amine-Associated Receptor 5 Provides Olfactory Input Into Limbic Brain Areas and Modulates Emotional Behaviors and Serotonin Transmission. *Front Mol Neurosci.* 2020; 13:18. doi: 10.3389/fnmol.2020.00018. (Scopus/WoS/ РИИЦ, IF= 2.678).

Musienko PE, Lyalka VF, Gorskii OV, Merkulyeva N, Gerasimenko YP, Deliagina TG, Zelenin PV. Comparison of operation of spinal locomotor networks activated by supraspinal commands and by epidural stimulation of the spinal cord in cats. *J Physiol.* 2020; 598: 3459-3483. doi: 10.1113/JP279460. (Scopus/WoS/ РИИЦ, IF=4.547).

Shapkova EY, Pismennaya EV, Emelyannikov DV, Ivanenko Y. Exoskeleton Walk Training in Paralyzed Individuals Benefits From Transcutaneous Lumbar Cord Tonic Electrical Stimulation. *Front Neurosci.* 2020; 14:416. doi: 10.3389/fnins.2020.00416. (Scopus/WoS/ РИИЦ, IF=6.074).

Barshutina MN, Musienko PE, Tkachev AG. Modeling of elastic modulus of CNT/silicone composites designed for medical applications. (2020). *Advanced Materials & Technologies.* 2020; 1(17): 49-53. DOI: 10.17277/amt.2020.01.pp.049-053 (РИИЦ, IF= 0,293).

Berezovskaya AS, Tyganov SA, Nikolaeva SD, Naumova AA, Merkulyeva NS, Shenkman BS, Glazova MV. Dynamic Foot Stimulations During Short-Term Hindlimb Unloading Prevent Dysregulation of the Neurotransmission in the Hippocampus of Rats. *Cell Mol Neurobiol.* 2020; doi: 10.1007/s10571-020-00922-2. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32683580/> (Scopus/WoS/РИИЦ, IF= 3.811).

E. Efimova, A. Kozlova, V. Razenkova, N. Katolikova, K. Antonova, T. Sotnikova, N. Merkulyeva, A. Veshchitskii, D. Kalinina, D. Korzhevskii, P. Musienko, E. Kanov, R.

Gainetdinov. Increased dopamine transmission and adult neurogenesis in trace amine-associated receptor 5 (TAAR5) knockout mice. *Neuropharmacology*. (Scopus/WoS/ РИИЦ, IF=4.431).

Prikhodko, V.; Chernyuk, D.; Sysoev, Y.; Zernov, N.; Okovityi, S.; Popugaeva, E. Potential Drug Candidates to Treat TRPC6 Channel Deficiencies in the Pathophysiology of Alzheimer's Disease and Brain Ischemia. *Cells* 2020, 9, 2351. <https://doi.org/10.3390/cells9112351> (WOS/Scopus/РИИЦ, IF= 4,8).

2021:

Popov A, Lyakhovetskii V, Bazhenova E, Gorskii O, Kalinina D, Merkulyeva N, Musienko P. The role of load-dependent sensory input in the control of balance during gait in rats. *J Exp Biol*. 2021 Aug 1;224(15):jeb242138. doi: 10.1242/jeb.242138. (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=3.312).

Simultaneous bidirectional hindlimb locomotion in decerebrate cats. Lyakhovetskii V, Merkulyeva N, Gorskii O, Musienko P. *Sci Rep*. 2021;11(1):3252. doi: 10.1038/s41598-021-82722-2. <https://www.nature.com/articles/s41598-021-82722-2> (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=4.379).

D.S. Kalinina, M.A. Ptukha, A.V. Goriainova, N.S. Merkulyeva, A.A. Kozlova, R.Z. Murtazina, T.S. Shemyakova, S.R. Kuvarzin, A.N. Vaganova, A.B. Volnova, R.R. Gainetdinov, P.E. Musienko. Role of the trace amine-associated receptor 5 (TAAR5) in the sensorimotor functions. *Scientific Reports*. 2021. In press. (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=4.379).

D. Kalinina, A. Goriainova, N. Pavlova, N. Merkulyeva, R. Gainetdinov, P. Musienko Repair after incomplete spinal cord injury in TAAR5 KO mice. *European Neuropsychopharmacology*. (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=4.6).

2022:

V. Deriabin, S.O. Kirichenko, A.V. Lopachev, Y. Sysoev, P. Musienko, R. Islamova. Ferrocenyl-containing silicone nanocomposites as materials for neuronal interfaces. *Composites Part B: Engineering*. Volume 236, 1 May 2022, 109838. doi.org/10.1016/j.compositesb.2022.109838 (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=11.322).

Merkulyeva N, Lyakhovetskii V, Gorskii O, Musienko P. Differences in backward and forward treadmill locomotion in decerebrated cats. *J Exp Biol*. 2022 Apr 19:jeb.244210. doi: 10.1242/jeb.244210 (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=3.308).

Efimova EV, Kuvarzin SR, Mor MS, Katolikova NV, Shemiakova TS, Razenkova V, Ptukha M, Kozlova AA, Murtazina RZ, Smirnova D, Veshchitskii AA, Merkulyeva NS, Volnova AB, Musienko PE, Korzhevskii DE, Budygin EA, Gainetdinov RR. Trace Amine-Associated Receptor 2 Is Expressed in the Limbic Brain Areas and Is Involved in Dopamine Regulation and Adult Neurogenesis. *Front Behav Neurosci*. 2022 Apr 1;16:847410. doi: 10.3389/fnbeh.2022.847410. eCollection 2022. (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=3.558).

Musienko PE, Lyalka VF, Gorskii OV, Zelenin PV, Deliagina TG. Activity of spinal interneurons during forward and backward locomotion. *J Neurosci.* 2022; 42(17):3570-3586. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1884-21.2022. (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=6.167).

M.N. Barshutina, S.O. Kirichenko, V.A. Wodolajsky, A.V. Lopachev, S.N. Barshutin, O.V. Gorsky, K.V. Deriabin, A.A. Sufianov, D.V. Bulgin, R.M. Islamova, A.G. Tkachev, P.E. Musienko. PDMS-CNT composite for soft bioelectronic neuronal implants. *Composites Part B: Engineering.* Volume 247, Desember 2022, 110286. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2022.110286>. (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=11.322).

Dmitry V. Amakhin, Elena B. Soboleva, Tatiana Yu Postnikova, Natalia L. Tumanova, Nadezhda M. Dubrovskaya, Daria S. Kalinina, Dmitrii S. Vasilev1 and Aleksey V. Zaitsev Maternal Hypoxia Increases the Excitability of Neurons in Entorhinal Cortex and Dorsal Hippocampus of Offspring Rats; *Front. Neurosci.*, 2022 Sec. Neurodegeneration. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.867120>. (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=4.501).

Prikhodko, V.A.; Sysoev, Y.I.; Gerasimova, E.V.; Okovityi, S.V. Novel Chromone-Containing Allylmorpholines Induce Anxiolytic-like and Sedative Effects in Adult Zebrafish. *Biomedicines* 2022, 10, 2783. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10112783> (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=4,757).

Mikhail I. Bogachev, Asya I. Lyanova, Aleksandr M. Sinitca, Svetlana A. Pyko, Nikita S. Pyko, Alexander V. Kuzmenko, Sergey A. Romanov, Olga I. Brikova, Margarita Tsygankova, Dmitry Y. Ivkin, Sergey V. Okovityi, Veronika A. Prikhodko, Dmitrii I. Kaplun, Yuri I. Sysoev, Airat R. Kayumov. Understanding the complex interplay of persistent and antipersistent regimes in animal movement trajectories as a prominent characteristic of their behavioral pattern profiles: Towards an automated and robust model-based quantification of anxiety test data. *Biomedical Signal Processing and Control.* 2022. (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=5,906).

V. Lyakhovetskii, P. Shkorbatova, O. Gorskii, P. Musienko. Forward stepping evoked by transvertebral stimulation in the decerebrate cat. *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface.* (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=4,722).

2023:

D. Kalinina, V. Lyakhovetskii, O. Gorskii, P. Shkorbatova, N. Pavlova, E. Bazhenova, Yu. Sysoev, R. Gainetdinov, P. Musienko. Alteration of postural reactions in rats with different levels of dopamine depletion. *Biomedicines.* - 2023. - Vol 11, No 7. P. 1958, <https://doi.org/10.3390/biomedicines11071958> , (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=4,757).

Sysoev Yuriy, Bazhenova Elena, Shkorbatova Polina, Kovalev Gleb, Labetov Ivan, Merkulyeva Natalia, Shkarupa Dmitry and Musienko Pavel. Functional mapping of the lower urinary tract by epidural electrical stimulation of the spinal cord in decerebrated cat model. *Scientific Reports* (Scopus. WoS, РИИЦ, IF=4,595).

2024:

Valle, G., Katic Secerovic, N., Eggemann, D., Gorskii, O., Pavlova, N., Petrini, F. M., Cvancara, P., Stieglitz, T., Musienko, P., Bumbasirevic, M. & Raspopovic, S. Biomimetic computer-to-brain communication enhancing naturalistic touch sensations via peripheral nerve stimulation. 20.02.2024, Nature Communications. 15, 1, 1151 <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45190-6> (Scopus, WoS, РИНЦ, IF=16,6).

Secerovic N, Balaguer JM, Gorskii O, Pavlova N, Liang L, Ho J, Grigsby E, Gerszten P, Karal-ogly D, Bulgin D, Orlov S, Pirondini E, Musienko P, Raspopovic S, Capogrosso M. Neural population dynamics reveals disruption of spinal sensorimotor computations during electrical stimulation of sensory afferents. Cell Reports 43, 113695, 2024 <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.113695> (Scopus, WoS, РИНЦ, IF=8,8).

Gerasimova E, Enikeev D, Yakovlev A, Zakharov A, Sitdikova G. Chronic Hyperhomocysteinemia Impairs CSD Propagation and Induces Cortical Damage in a Rat Model of Migraine with Aura. Biomolecules. 2024; 14(11):1379. <https://doi.org/10.3390/biom14111379> (Scopus, WoS, РИНЦ, IF=6,064).

Статьи Q2: 13

2019:

Shkorbatova PY, Lyakhovetskii VA, Merkulyeva NS, Veshchitskii AA, Bazhenova EY, Laurens J, Pavlova NV, Musienko PE. Prediction Algorithm of the Cat Spinal Segments Lengths and Positions in Relation to the Vertebrae. Anat Rec 25 (Hoboken). 2019; 302(9):1628-1637. doi: 10.1002/ar.24054. (WOS, Scopus, РИНЦ, IF=1.518).

Deliagina TG, Musienko PE, Zelenin PV. Nervous mechanisms of locomotion in different directions. Curr Opin Physiol. 2019; 8:7-13. doi: 10.1016/j.cophys.2018.11.010. (WOS, Scopus, РИНЦ, IF=1.99)

Deriabin, K. V., Lobanovskaia, E. K., Kirichenko, S. O., Barshutina, M. N., Musienko, P. E. & Islamova, R. M., Synthesis of ferrocenyl-containing silicone rubbers via platinum-catalyzed Si-H self-cross-linking. Applied Organometallic Chemistry. 2019, e5300. doi: 10.1002/aoc.5300 (Scopus, РИНЦ, IF=2.944).

Kalinina DS, Vasilev DS, Volnova AB, Nalivaeva NN, Zhuravin IA. Age-Dependent Electroencephalogram Dynamics and Epileptogenic Responsiveness in Rats Subjected to Prenatal Hypoxia. Dev Neurosci. 2019; 41(1-2):56-66. doi: 10.1159/000497224 (Scopus, РИНЦ, IF= 3.068).

Sysoev YI, Uzuegbunam BC, Okovityi SV. Attenuation of neurological deficit by a novel ethanolamine derivative in rats after brain trauma. J Exp Pharmacol. 2019; 11:53-63. doi: 10.2147/JEP.S199464. eCollection 2019. (Scopus, РИНЦ, IF= 3.611)

2020:

Pais-Vieira C, Allahdad M, Neves-Amado J, Perrotta A, Morya E, Moiola R, Shapkova E, Pais-Vieira M. Method for positioning and rehabilitation training with the ExoAtlet powered

exoskeleton. *MethodsX*. 2020; 7:100849. doi: 10.1016/j.mex.2020.100849. (Scopus/WoS/РИИЦ IF=3.812)

Deriabin KV, Lobanovskaia EK, Kirichenko SO, Barshutina MN, Musienko PE, Islamova RM. Synthesis of ferrocenyl-containing silicone rubbers via platinum-catalyzed Si–H self-cross-linking. *Appl Organometal Chem*. 2020; 34:e5300 doi: 10.1002/aoc.5300 (Scopus/WoS/РИИЦ, IF=3.259)

Zabegalov KN, Wang D, Yang L, Wang J, Hu G, Serikuly N, Alpyshov ET, Khatsko SL, Zhdanov A, Demin KA, Galstyan DS, Volgin AD, de Abreu MS, Strekalova T, Song C, Amstislavskaya TG, Sysoev Y, Musienko PE, Kalueff AV. Decoding the role of zebrafish neuroglia in CNS disease modeling. *Brain Res Bull*. 2020; S0361-9230(20)30642-0. doi: 10.1016/j.brainresbull.2020.09.020. (Scopus/WoS/РИИЦ, IF= 3.370)

Obraztsova EY, Barshutina MN, Bakunin ES, Rukhov AV, Shipovskaya AA, Shuklinov V. Adsorption characteristics of nanographite oxide obtained from thermally expanded graphite. *Mendeleev Communications*. 2020; 30(2): 174-176. DOI: 10.1016/j.mencom.2020.03.014 (Scopus/WoS/РИИЦ, IF=2.010)

2021: нет

2022:

Shkorbatova, V. Lyakhovetski, A. Veshchitskii, E. Bazhenova, N. Pavlova, P. Musienko, N.Merkulyeva. Postnatal growth of the spinal segments in cat: their lengths and positions in relation to vertebrae. *Anatomical Records*. 2021. DOI: 10.1002/ar.24945 (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=2.227).

2023:

Yury Ivanenko, Elena Y Shapkova, Daria A Petrova, Daria F Kleeva, Mikhail A Lebedev Exoskeleton gait training with spinal cord neuromodulation. *Front Hum Neurosci*. 2023 May 11:17:1194702. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2023.1194702> (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=3,473).

2024:

Sysoev Yu I., Okovityi S.V. Prospects of Electro-corticography in Neuropharmacological Studies` in Small Laboratory Animals *Brain Sci*. 2024, 14(8), 772; <https://doi.org/10.3390/brainsci14080772> (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=3,0).

A.Popov, V. Lyakhovetskii, O.Gorskii, D.Kalinina, N.Pavlova, P.Musienko. Effect of Hindlimb Unloading on Hamstring Muscle Activity in Rats. *Brain Behav Evol* 2024;99(2):86-95. <https://doi.org/10.1159/000537776> (Scopus, WoS, РИИЦ, IF=1,919).

Из них статьи в издательстве Nature: 5

Afanasenkau D, Kalinina D, Lyakhovetskii V, Tondera C, Gorsky O, Moosavi S, Pavlova N, Merkulyeva N, Kalueff A, Minev I, Musienko P. Rapid prototyping of soft bioelectronic implants for use as neuromuscular interfaces. *Nat Biomed Eng*. 2020; 4:1010–1022. DOI: 10.1038/s41551-020-00615-7 (Scopus/WoS/РИИЦ, IF=17.149)

Simultaneous bidirectional hindlimb locomotion in decerebrate cats. Lyakhovetskii V, Merkulyeva N, Gorskii O, Musienko P. *Sci Rep.* 2021;11(1):3252. doi: 10.1038/s41598-021-82722-2. <https://www.nature.com/articles/s41598-021-82722-2> (Scopus, WoS, РИНЦ, IF=4.379)

D.S. Kalinina, M.A. Ptukha, A.V. Goriainova, N.S. Merkulyeva, A.A. Kozlova, R.Z. Murtazina, T.S. Shemyakova, S.R. Kuvarzin, A.N. Vaganova, A.B. Volnova, R.R. Gainetdinov, P.E. Musienko. Role of the trace amine-associated receptor 5 (TAAR5) in the sensorimotor functions. *Scientific Reports.* 2021. In press. (Scopus, WoS, РИНЦ, IF=4.379)

Sysoev Yuriy, Bazhenova Elena, Shkorbatova Polina, Kovalev Gleb, Labetov Ivan, Merkulyeva Natalia, Shkarupa Dmitry and Musienko Pavel/ Functional mapping of the lower urinary tract by epidural electrical stimulation of the spinal cord in decerebrated cat model. *Scientific Reports* (Scopus. WoS, РИНЦ, IF=4,595).

Valle, G., Katic Secerovic, N., Eggemann, D., Gorskii, O., Pavlova, N., Petrini, F. M., Cvancara, P., Stieglitz, T., Musienko, P., Bumbasirevic, M. & Raspopovic, S./ Biomimetic computer-to-brain communication enhancing naturalistic touch sensations via peripheral nerve stimulation. 20.02.2024, *Nature Communications.* 15, 1, 1151 <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45190-6> (Scopus, WoS, РИНЦ, IF=16,6).

Статьи в издательстве Science: нет

Статьи в издательстве Cell: 1

Secerovic N, Balaguer JM, Gorskii O, Pavlova N, Liang L, Ho J, Grigsby E, Gerszten P, Karalogly D, Bulgin D, Orlov S, Pirondini E, Musienko P, Raspopovic S, Capogrosso M. Neural population dynamics reveals disruption of spinal sensorimotor computations during electrical stimulation of sensory afferents. *Cell Reports* 43, 113695, 2024 <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.113695> (Scopus, WoS, РИНЦ, IF=8,8).

Патенты:

1. "Нейрональный имплант" приоритет на патент от 15.05.2020, выдан 07.09.2021, №2020116844
2. "Способ получения нейрональных имплантов" приоритет на патент от 09.03.2021, выдан 11.10.2021, №2021106033

Всего статей

17 (2019 г.) +22 (2020 г.) +15 (2021 г.) +20 (2022 г.) +15 (2023 г.) +12 (2024 г.) = **101**

Общий импакт фактор

29,1 (2019 г.) +67 (2020 г.) + 39,455 (2021 г.) +63,75 (2022 г.) + 18,195 (2023 г.) +38,183 (2024 г.) = **255,683**

У людей, пострадавших вследствие травмы или неврологического заболевания, может возникнуть разрыв связи между мозгом и остальными частями тела, что существенно влияет на сенсомоторные способности. Кроме того, они нередко сталкиваются с

проблемами в восприятии своего тела. Снижение подвижности и утрата независимости, возникающие в результате этого, приводят к серьезным проблемам со здоровьем и требуют постоянного ухода. Недавно разработанные нейротехнологии используют прямую электрическую стимуляцию остаточной периферической или центральной нервной системы для восстановления некоторых утраченных сенсомоторных функций [1,2,3]. Интерфейсы мозг-компьютер (ИМК), основанные на имплантируемых устройствах, потенциально могут восстановить двунаправленный поток информации от мозга и к нему [1,4,5]. Имплантация биосовместимых электродов в остаточные нервные структуры [6] позволяет создать прямой канал связи с мозгом. Стимуляция периферических соматических нервов (ПНС) [7,8,9,10], спинного мозга [11,12,13,14,15] и соматосенсорной коры [S1] [16,17,18] показала способность восстанавливать утраченную чувствительность, что позволяет нейропротезам с обратной связью установить двунаправленную связь между человеком и машиной. Восстановление сенсорной обратной связи улучшило способность пациентов использовать бионические конечности и увеличило процент принятия протезов [5,19,20,21,22]. Тем не менее, результирующая ловкость бионических рук все еще далека от ловкости рук у здоровых людей [23], как и подвижность и выносливость бионических ног [24]. Это связано с множеством факторов, среди которых неспособность современных нейротехнологии вызвать естественные ощущения [1], что часто приводит к парестезии. Обычные устройства нейромодуляции не стимулируют нейроны на основе кодирования естественного прикосновения человека или с использованием подходов, основанных на моделировании [25,26,27], а используют с заданную постоянную частоту стимуляции [28,29,30]. Эти паттерны стимуляции активируют все нейроны одновременно, отличаясь от нейронной активности во время естественного прикосновения *in vivo* [31]. На самом деле, такая естественная асинхронная активация обусловлена вероятностной природой генерации потенциала действия в органах чувств, таких как мышечные веретена [32] или афференты [33], а также из-за стохастической природы синаптической передачи [34]. Синхронизированная стимуляция, генерирующая неестественную совокупную активность в нервной ткани, может быть одной из причин парестезии [8,26]. На самом деле, эти ощущения, вероятно, возникают из-за этой неестественной активации волокон [35] и могут быть вызваны чрезмерным возбуждением афферентов или перекрестными помехами между ними [36]. Если парестезия вызвана невропатиями, она часто приобретает хронический характер и не улучшается со временем, что может отражать неспособность центральной нервной системы научиться интерпретировать такие aberrантные нейронные реакции [31] и затрудняет использование электростимуляции. Более того, это может влиять на способность человека ощущать и реагировать на другие типы сенсорной информации,

такие как прикосновение или температура, что затрудняет выполнение определенных задач или действий, требующих использования нескольких органов чувств или взаимодействия с объектами в окружающей среде.

В качестве возможного решения этой проблемы можно привести электрическую стимуляцию, имитирующую естественные сенсорные сигналы, известную как биомиметическая обратная связь [31,37]. Она способна вызывать более интуитивные и естественные ощущения, что способствует лучшему взаимодействию с объектами по сравнению с широко используемыми парадигмами стимуляции [38,39,40]. Биомиметические подходы могут вызывать совокупную реакцию активации нейронов, аналогичную естественной [23,41]. Предыдущие исследования естественного осязания показывают, что соматосенсорная информация о тактильных особенностях кодируется синергетически всеми афферентными классами в нерве [42]. Соматосенсорная кора [43,44] (и, возможно, клиновидное ядро [45]) представляют собой самые ранние стадии, на которых сигналы, поступающие от нескольких типов волокон, сходятся и интегрируются друг с другом. Это допускает возможность того, что имитация реалистичных нейронных реакций небольших афферентных популяций смешанного типа приведет к натуралистическим паттернам активации коры головного мозга [41], создавая квазиестественные тактильные восприятия. Однако, несмотря на первоначальный успех биомиметических подходов у людей с ампутированными руками, которые превзошли классические небомиметические модели стимуляции, этот подход никогда не тестировался на людях с ампутированными нижними конечностями. Более того, исследования проводились в условиях выполнения повседневных задач или в более сложных сценариях, чем у пользователей с одноканальной стимуляцией. Также еще не до конца понятно, как эти паттерны передаются и интерпретируются на ранних уровнях обработки информации вдоль соматосенсорной оси.

Для исследования передачи нервного сигнала по соматосенсорной оси мы разрабатываем нейропротезный каркас, который включает в себя реалистичное моделирование *in silico*, доклиническую валидацию на животных и клинические испытания на людях с имплантатами (Рис. 1). Этот многогранный подход позволяет использовать архитектуру, созданную в результате разработки валидированной нейротехнологии, основанной на моделях, применительно к человеку. Мы впервые разработали стратегии биомиметической нейростимуляции для восстановления соматосенсорной обратной связи с использованием реалистичной модели афферентной иннервации у человека *in silico* (FootSim) [46]. Эта вычислительная модель может имитировать нейронную активность сенсорных афферентов, иннервирующих подошвенную область человеческой стопы, в ответ на пространственно-временные деформации кожи. Это дало возможность разработать

паттерны нейростимуляции, которые потенциально имитируют соответствующие временные особенности естественного кодирования прикосновения во время ходьбы. В дополнение к разработке парадигм стимуляции мы решили важную задачу: понять, как конкретные паттерны искусственной стимуляции транслируются в нейронные сигналы и как эти сигналы распространяются вдоль соматосенсорной оси. Для этого мы стимулировали большеберцовые нервы децеребрированных кошек с помощью манжетных электродов с одновременной регистрацией нейронной активности (в ганглии дорсального корешка (DRG - dorsal root ganglion) с помощью 32-канальной решетки УТАН и в спинном мозге (L6) с помощью 32-канального стержневого электрода). Это позволило нам записать и сравнить электрически индуцированную активность в ответ на различные паттерны стимуляции нервов с реакцией нейронов на механическое прикосновение. Мы проверили этот подход с помощью тестов на трех пациентах-ампутантах с имплантатами в большеберцовом нерве. Сначала мы сравнили естественность вызываемого искусственного ощущения с помощью биомиметических и небимиметических кодировок. Затем мы реализовали биомиметическую нейростимуляцию в нейропротезе ноги с обратной связью в реальном времени, сравнивая ее эффективность с ранее принятыми стратегиями нейростимуляции (линейной и дискретной нейромодуляцией). Работоспособность пациентов оценивалась при выполнении двигательных задач, например, при ходьбе по лестнице [47], а также в условиях выполнения моторно-когнитивной задачи [48].

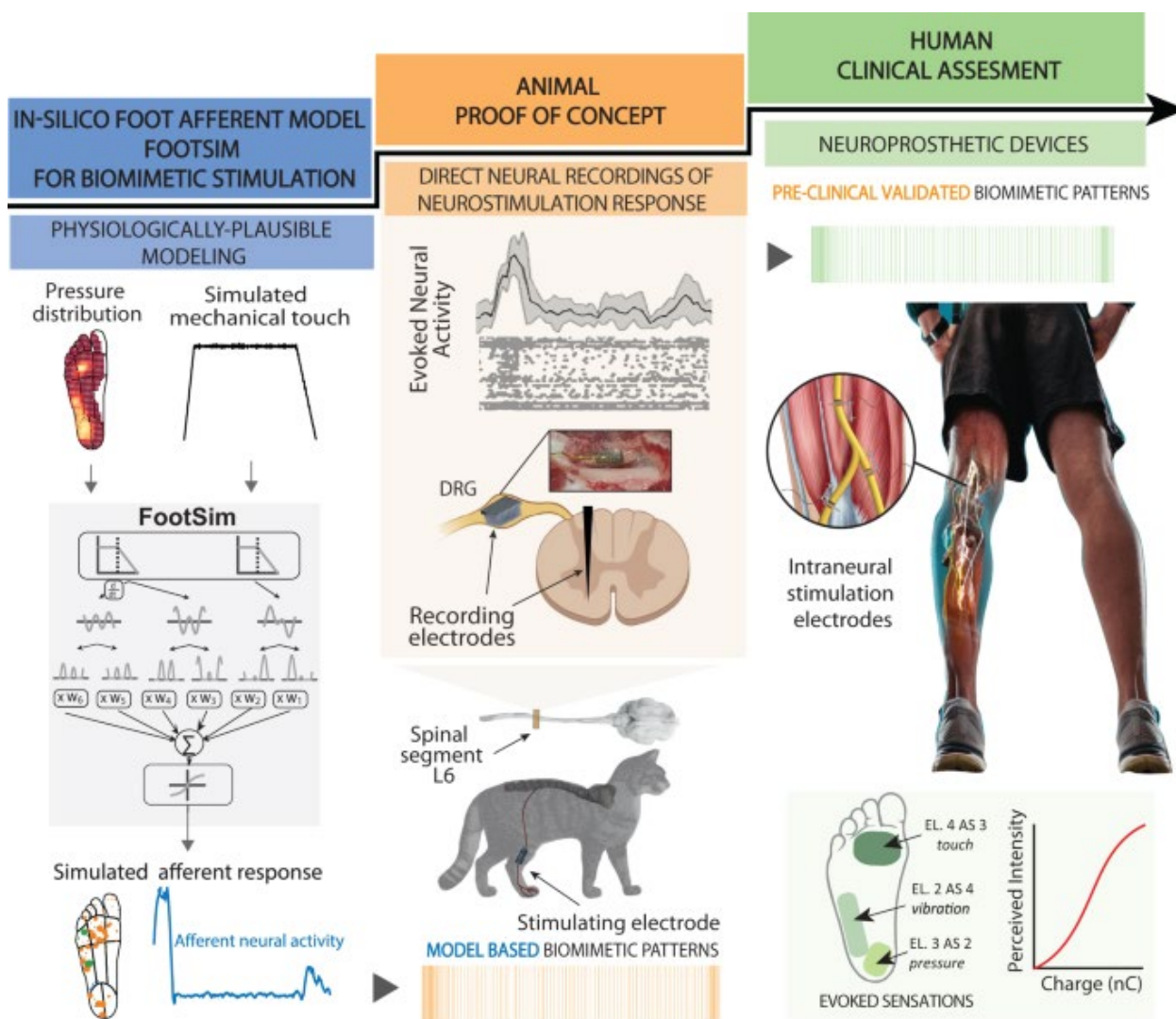


Рисунок 1 - Разработка биомиметического нейропротеза. Успешная разработка соматосенсорного нейропротеза базируется на трех основных принципах: (1) использование in-silico модели биологической сенсорной обработки для моделирования естественной активации нервной системы на внешние тактильные стимулы (синий сегмент); (2) доказательство концепции на животных позволяет экспериментально проверить механизмы использования конкретных стратегий нейростимуляции, определенных с помощью моделирования (оранжевый сегмент); DRG — дорсальный корешковый ганглий. (3) проведение тщательной клинической валидации биомиметической технологии на имплантированных людях для оценки функциональных результатов в реальной клинической практике (зеленый сегмент). Результаты клинических испытаний позволят собрать соответствующие данные, которые можно использовать для улучшения вычислительного моделирования. (Иллюстрация предоставлена Джакомо Валле, ETH Zurich)

Эксперименты на животных и людях указывают на то, что изменчивая во времени биомиметическая электростимуляция должна стать ключевой характеристикой следующего поколения нейропротезов, способных напрямую передавать физиологически естественные сигналы в мозг.

1 Материалы и методы

1.1 Моделирование тактильных афферентов, иннервирующих кожу стопы

В настоящей работе мы использовали FootSim [46] – *in silico* модель афферентов, иннервирующих подошву ноги, которая имитирует нейрональные реакции на произвольные механические стимулы. Модель состоит из двух частей: (i) механической части, рассчитывающей деформацию кожи под действием стимула и преобразующей ее в напряжение кожи, и (ii) моделей возбуждения, которые генерируют спайки отдельных волокон различных классов афферентных волокон. Каждая модель содержит 11 уникальных параметров. Модель подобрана на основе набора данных тактильных афферентов, подвергшихся воздействию широкого спектра вибротактильных стимулов с различной частотой и амплитудой, зарегистрированных у человека с помощью микронейрографии. Мы подобрали несколько моделей для каждого типа афферентов, частично отражающих естественную изменчивость реакции различных афферентов, наблюдаемую в эмпирических данных.

1.2 Разработка метода биомиметической нейрональной стимуляции с помощью FootSim

Мы разработали пять типов биомиметических паттернов, основанных на кумулятивных реакциях конкретных типов афферентов. В модели FootSim мы наполнили подошву стопы только одним типом афферентов (FA1/FA2/SA1/SA2) или полной популяцией афферентов (FULL biomimetic), следуя их реальному распределению. Стимулы были длительностью 2 с и охватывали всю область стопы. Нарастающие и удерживающие стимулы были объединены (0,15 с по фазе, 0,3 с по фазе) с низкоамплитудным шумом окружающей среды (до 0,5% от максимальной амплитуды нарастающих и удерживаемых стимулов). Модель footSim оценивала реакцию каждого отдельного афферента, размещенного на подошве стопы, и обеспечивала его спайковую активность. Эта активность для всех волокон, помещенных в подошву стопы, агрегировалась с помощью перистимульной временной гистограммы (peri-stimulus time histogram, PSTH). Мы подобрали сглаживающую функцию, напоминающую PSTH, и использовали ее для модуляции частоты стимуляции. Мы применили одну и ту же процедуру для каждой биомиметической парадигмы. Амплитуда и ширина импульса стимуляции, выявленные в ходе процедуры картирования электродов, поддерживались на постоянном уровне вдоль всей цепи. Такой выбор был основан на предыдущих выводах о том, что частота является параметром стимуляции, более связанным с качеством вызванных ощущений [39, 49, 50] в то время, как заряд модулирует интенсивность [51].

1.3 Хирургические процедуры на животных

Эксперименты проводили на 2 взрослых кошках (2–3 года) обоих полов (массой 2,5–4,0 кг). Все процедуры проводили в соответствии с протоколами, утвержденными Комитетом по уходу за животными Института физиологии им. И. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, и в соответствии с Директивой Совета Европейского сообщества (2010/63EU). Хирургические процедуры были аналогичны тем, которые были в предыдущих исследованиях (52,53). Кошкам наркотизировали смесью изофлурана (2–4%) и кислорода. Для индукции анестезии вводили ксилазин (0,5 мг/кг, в/м). Уровень анестезии определяли путем сдавливания лапы (отведение конечности должно отсутствовать), а также путем проверки размера и реактивности зрачков. Трахея была канюлирована, а сонные артерии перевязаны. Проводилась децеребрация на преколликкулярно-постмамиллярном уровне, чтобы обеспечить чистые записи сенсорных сигналов без влияния высших структур. Осуществляли доступ к ламинэктомии большеберцового нерва в соответствующих сегментах для интраспинальной и регистрации нейронов дорсального корешкового ганглия (Рис. 3). Манжетный электрод (Microprobes for Life Science, Gaithersburg, MD 20879, США) был помещен вокруг общего ствола большеберцового нерва после тщательного отделения окружающих тканей. Обнаженная дорсальная поверхность спинного мозга была покрыта теплым парафиновым маслом. Линейные стержневые электроды с 32 каналами (Neuronexus, Ann Arbor, MI, США) были аккуратно имплантированы на спинальном уровне L6 с использованием стереотаксических рамок. Имплантация в дорсальный корешковый ганглий 32-канальной матрицы UTAH (Blackrock Microsystems, Salt Lake City, UT, США) осуществлялась с помощью пневматического пистолета. После хирургических вмешательств подача анестезии прекращалась. Премедикация, ламинэктомия, децеребрация, позиционирование и имплантация электродов длились от 9 до 11 часов, что делало общую продолжительность экспериментальной процедуры 12–15 часов. Во время эксперимента ректальная температура и среднее артериальное давление животных постоянно контролировались и поддерживались на уровне $37 \pm 0,5$ °C и выше 80 мм рт.

1.4 Электрофизиологические эксперименты на модели децеребрированной кошки

Через контакты манжетных электродов подавались одиночные импульсы катодных, сбалансированных по заряду, симметричных прямоугольных импульсов (с длительностью импульса 0,5 мс). Стимуляцию проводили с помощью стимуляторов АМ модели 2100 (A-M Systems, Sequim, WA, США). Электромиографические и нейронные сигналы

регистрировали с помощью системы LTR-EU-16 с АЦП LTR11 (L-Card, Москва, Россия) и системы регистрации RHS с 32-канальными усилителями сигнала (Intan Technologies, Los Angeles, CA, США) с частотой дискретизации 25 и 30 кГц соответственно. Амплитуда стимуляции настраивалась исходя из возникновения четких сенсорных ответов в дорсальном отделе спинного мозга в ответ на низкочастотную стимуляцию. Перед началом экспериментального протокола с различными стимуляциями мы провели испытания настройки, в которых мы изучили влияние периферической стимуляции на сигнал в спинном мозге в режиме реального времени. Мы стимулировали импульс за импульсом (низкочастотная стимуляция, ~ 2 Гц) и увеличивали амплитуду до тех пор, пока не достигали выраженного и воспроизводимого афферентного ответа (четко наблюдаемая электрическая активность со стороны спинного мозга). Эти сигналы передавали информацию с периферии, которая затем интегрировалась и обрабатывалась вдоль соматосенсорной оси. Мы вычисляли среднее значение (meanBaseline) и стандартное отклонение сигнала покоя (stdBaseline). Чтобы найти этот порог, мы рассчитали среднее значение (meanBaseline) и значение стандартного отклонения сигнала покоя (stdBaseline): когда пиковые значения афферентных залпов были выше, чем $\text{meanBaseline} + 2.5\text{stdBaseline}$, мы определили это значение амплитуды как амплитуду используемой стимуляции. Стимуляция большеберцового нерва кошки проводилась с амплитудой 60 мкА.

Мы применили 5 типов парадигм биомиметической стимуляции, повторяя каждый паттерн 90 раз. Естественное прикосновение осуществляли путем растирания кошачьей лапы ватной палочкой и повторялось 15 раз.

1.5 Анализ нейрональной активности

После получения данных о нейрональной активности животных был проведен подробный оффлайн-анализ, включавший следующие этапы:

Предварительная обработка. Мы отфильтровали необработанные сигналы, записанные с помощью 32-электродного массива, имплантированного в спинной мозг, а также сигналы, записанные с помощью 32-канального массива УТАН в ганглии дорсального корешка с гребенчатым фильтром для удаления артефактов на частоте 50 Гц и ее гармоник. Мы разработали цифровой фильтр с бесконечной импульсной характеристикой в виде группы режекторных фильтров, равномерно расположенных с частотой ровно 50 Гц. Мы убрали дрейф сигнала с помощью высокочастотного фильтра Баттерворта 3-го порядка с частотой среза 30 Гц. Высокоамплитудные артефакты определялись при пересечении сигналом порога, равного 15σ , где мы оценили стандартное

отклонение фонового шума (54) так как $\sigma = \text{медиана } |X| 0.6745$. Обнаруженные артефакты были сглажены в течение 10 мс до и после пересечения порога. Мы извлекли нейронные сигналы продолжительностью 2 с, записанные во время стимуляции с каждой заданной парадигмой. Естественные прикосновения ватной палочкой вызывали реакцию в 0,8 с, которую мы брали для дальнейшего анализа были выбраны сегменты в конкретных испытаниях, где нейронная активность была устойчивой и воспроизводимой.

Выявление локальных полевых потенциалов (LFP). Были выделены локальные полевые потенциалы поля по полосам, пропускающим нейронный сигнал в диапазоне от 30 до 300 Гц, и усреднены между несколькими повторениям стимуляционных паттернов.

Сравнение распространения LFP. При регистрации сигнала в дорсальном корешковом ганглии были выделены каналы, в которых были видны четкие афферентные импульсы (12 каналов) и сравнили их общую активность в различных стимулирующих условиях (биомиметических, тонических и естественных). Мы сравнили распределение зарегистрированных LFP с использованием метрики дивергенции Куллбака-Лейблера.

Характеристика и количественная оценка активности нейронных спайков. Мы выделили нейронную спайковую активность, применив к исходному сигналу цифровой фильтр Баттерворта 3-го порядка, разделив сигнал в диапазоне частот от 800 до 5000 Гц. Были обнаружены спайки с помощью неконтролируемого алгоритма (55). Пороговое значение было отдельным для каждого канала записи. Для его точного определения, были объединены все наборы данных, записанные в одном месте (спинной мозг/ганглий дорсального корешка), которые проанализировали в одном файле. Все проанализированные наборы данных были объединены в один файл с целью определения правильных пороговых значений. Порог обнаружения потенциалов действия был установлен на отрицательное значение 3σ для сигналов, зарегистрированных в спинном мозге, и 4σ для сигналов, зарегистрированных в ганглии дорсального корешка, где $\sigma = \text{медиана } |X| 0,6745$, что представляет собой оценку фонового стандартного отклонения.

Многоэлементная активность представлена в виде растровых диаграмм и количественно выражена с помощью временной гистограммы перистимула (PSTH). Каждая точка на растровом графике представляет собой один обнаруженный спайк, в то время как каждый ряд соответствует внутриспинальной или внутрикорковой активности, от одного импульса мышечного нерва.

При определении правильного отрезка временного интервала мы начали с построения предварительных PSTH с разной длиной временного интервала и визуального анализа результатов. Если размер интервала был слишком мал, гистограмма выглядела очень зашумленной, с большим количеством столбцов, которые были очень короткими и

не давали четкой информации о распределении данных. И наоборот, если бины были слишком большие, гистограмме не хватало разрешения, она теряла важные детали и не была похожа на нейронную динамику. Поэтому ячейки должны были быть достаточно большими, чтобы сгладить шум в данных, но не настолько большими, чтобы они чрезмерно упрощали распределение. Кроме того, было применено правило Фридмана–Диакониса для определения ширины интервала гистограммы. Оптимальная ширина оценивалась как $2IQR/N^{1/3}$, где IQR — межквартильный диапазон данных, а N — количество точек в нашем наборе данных. При применении этого преобразования значения варьировались от 10 до 53 мс, в зависимости от условий стимуляции. Результаты такого подхода к оценке подтвердили выводы нашего визуального осмотра.

1.6 Набор пациентов и хирургические процедуры

В исследование были включены три пациента с односторонними трансфеморальными ампутированными конечностями. Все они были активными пользователями пассивных протезов (Ottobock 3R80) (Табл. S1). Этическое одобрение было получено от институциональных комитетов по этике Клинического центра Сербии (первоначальный IRB), Белград, Сербия (идентификатор ClinicalTrials.gov NCT03350061). Первый пациент был включен в исследование в ноябре 2017 года, а последний – в апреле 2018 года. Все участники прочитали и подписали информированное согласие. На протяжении всего нашего исследования все эксперименты проводились в соответствии с соответствующими директивами и правилами ЕС. Данное исследование было выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. В этом исследовании представленные результаты связаны с влиянием сенсibilизированного нейропротеза ноги на подвижность (первичный результат) и когнитивные усилия (вторичный результат). Другие результаты по влиянию сенсibilизированного нейропротеза ноги были представлены в предыдущих исследованиях следующим образом: Первичный — подвижность (7), предотвращение падений, метаболическое потребление; Вторичный — фантомная боль в конечностях (7), исполнение, когнитивная нагрузка.

Четыре электрода TIMEs (56) (по 14 активных участков каждый) были имплантированы в большеберцовую ветвь седалищного нерва каждого участника (7). Операции были выполнены под общей анестезией, через разрез кожи над бороздой между двуглавой мышцей бедра и полусухожильными мышцами. Отрезок кабелей микроэлектродов проводили через 4 небольших разреза кожи на 3–5 см выше подвздошной кости таза. Сегменты кабеля были экстернализованы (и закреплены швами) для обеспечения возможности чрескожного соединения с нейростимулятором. Через 90 дней

микроэлектроды были удалены под операционным микроскопом в соответствии с протоколом и полученными разрешениями.

Это исследование было выполнено в рамках более широкого набора экспериментальных протоколов, направленных на оценку влияния восстановления сенсорной обратной связи через нейронные имплантаты у пациентов с ампутированными конечностями [7,47,48,57]. Данные, представленные в этой статье, были получены в течение нескольких дней из рандомизированных условий. Функциональные данные были получены в течение 2 недель, чтобы свести к минимуму возможные эффекты обучения. Учитывая стабильную производительность на протяжении сеансов, эффект тренировки маловероятен (Рис. 5). В то время как Участники 1–2 участвовали во всех экспериментах из-за ограниченного времени, Участник 3 участвовал только в характеристике разомкнутого контура и оценке естественности, решив не участвовать в этих функциональных задачах с биомиметикой (ST и CDT). Данные сеансов с разомкнутым контуром, проверяющих естественность вызванных ощущений у Участника 3, представлены в Рис. S2

1.7 Интранейронная стимуляция для вызова искусственных ощущений

Каждый из имплантатов TIME (последнее поколение TIME-4H), имплантированных трем пациентам с ампутированными конечностями, состоял из 14 активных центров (АЦ) и двух заземляющих электродов. Подробную информацию о дизайне и изготовлении можно найти в ранее опубликованных работах (58,59). Для каждого участника было доступно 56 электродных каналов для стимуляции большеберцового нерва. Во время процедуры характеристики регистрировались параметры стимуляции (т.е. амплитуда и длительность импульса цепи стимуляции) для каждого электрода и АЦ. Электроды были подключены к внешнему многоканальному управляемому нейростимулятору STIMER (Axonic и Университет Монпелье) (60). Цель этой процедуры заключалась в определении взаимосвязи между параметрами стимуляции и качеством, местом и интенсивностью электрически вызванного ощущения, как описано Petrinì et al. Иначе говоря, инжектируемый заряд линейно увеличивался с фиксированной частотой (50 Гц) и шириной импульса за счет модуляции амплитуды стимуляции для каждого электродного канала. В случае, если диапазон стимуляции был слишком мал для выбранной длительности импульса и максимального инжектируемого тока, ширина импульса увеличивалась, и та же процедура повторялась. Когда испытуемый воспринимал какое-либо электрическое ощущение, регистрировался минимальный заряд (т.е. порог восприятия). Максимальный заряд был зарегистрирован для того, чтобы избежать причинения боли или дискомфорта

участнику. Это повторялось пять раз на канале, а затем усреднялось. Порог восприятия и максимальный заряд были получены для каждого электродного канала и использованы для выбора диапазона стимуляции. Для каждого АЦ максимальный заряд всегда был ниже предела химической безопасности TIME в 120 нС (61). Все данные были собраны с помощью специально разработанной психометрической платформы для применения нейропротезов, что позволило нам собирать данные с помощью стандартизированных оценочных опросников и шкал и проводить измерения с течением времени. Психометрическая платформа удобна в использовании и предоставляет врачам всю информацию, необходимую для оценки сенсорной обратной связи (62).

1.8 Оценка естественности ощущений

Сначала мы охарактеризовали оценку участниками воспринимаемой естественности стимуляции, полученной с помощью TIMEs в S1, S и S3. Мы использовали двухфазные последовательности импульсов тока продолжительностью 2 с с восходящей фазой (0,5 с), статической фазой (1 с) и убывающей фазой (0,5 с) с помощью TIME (Рис. 5в) с использованием линейной амплитудной нейромодуляции (26,39), синусоидальной широтно-импульсной нейромодуляции (10,64), частотной нейромодуляцией Пуассона (т.е. спайковая цепь Пуассона со средней частотой 50 Гц, состоящая из небiomиметической, частотно-вариативной стимуляции, где интервалы спайков не коррелируют и экспоненциально распределены) и паттернов biomиметической нейростимуляции, построенных с помощью FootSim (SAI-подобные, SAII-подобные, FAI-подобные, FAII-подобные и FULL Biomimetic).

Стимуляция осуществлялась с помощью трех АЦ для S1 и S2, вызывающих ощущения в фронтальной метке, трех АЦ для S1 и S2, вызывающих ощущения в центральной метке, трех АЦ для S1 и двух АЦ для S2, вызывающих ощущения в боковой метке, и пяти АЦ для S1 и двух АС, вызывающих ощущение в пятке. Для S3 был протестирован только один АЦ по четырем областям (Рис. S3). Участников попросили сообщить о местоположении (т.е. о проекционном поле) и естественности, оцененных по шкале от 0 до 5 (26,39,57). Каждое условие было рандомизировано, и каждое испытание стимуляции повторялось три раза. Вводимый заряд (амплитуда и длительность импульса) был специфичен для каждого канала и устанавливался на соответствующий пороговый заряд. Кроме того, во время каждой стимуляции также собирались рейтинги интенсивности, чтобы исключить соответствующие различия в интенсивности между стратегиями кодирования (смещение интенсивности). Для типичных временных масштабов, задействованных в наших экспериментах (испытания, длящиеся порядка нескольких

минут), ни один из наших участников не сообщил о существенных изменениях в интенсивности ощущений, которые указывали бы на наличие адаптации. Конкретные дескрипторы качества электрически вызванных ощущений, о которых сообщали участники, были электроднозависимыми, включая множество типов ощущений (естественных и неестественных) (64). Участники исследования не знали о сенсорных кодировках, используемых в каждом испытании.

1.9 Биомиметическая нейростимуляция в реальном времени в нейророботизированной ноге

Нейропротезная система включала в себя роботизированную ногу с сенсоризированной стелькой со встроенными датчиками давления, а также микроконтроллер и нейростимулятор [102], реализуя стратегии кодирования и обеспечивая сенсорную обратную связь в режиме реального времени с помощью имплантированных TIME. Мы внедрили и протестировали следующие условия: (i) отсутствие обратной связи (NF): протез не обеспечивает никакой сенсорной обратной связи; (ii) линейная амплитудная нейромодуляция (LIN): протез обеспечивает линейную обратную связь от каналов сенсоризируемой стельки (пяточного, латерального или медиального и фронтального); (iii) дискретная по времени нейромодуляционная обратная связь (DISC): протез доставлял короткие последовательности стимуляции (0,5 с) при активации определенного датчика (пяточного, бокового или центрального и фронтального) и снова (0,5 с) при освобождении нагрузки от этого датчика (нейростимуляция доставлялась только на переходных процессах); (iv) биомиметическая нейромодуляционная обратная связь (BIOM): нейропротезное устройство обеспечивает биомиметическую стимуляцию, которая, как сообщается, вызывает более естественные ощущения, от трех каналов сенсоризируемой стельки (пяточного, бокового или центрального и фронтального). Для биомиметического подхода, основанного на моделировании (BIOM), соответствующие частотные трейны были рассчитаны моделью ранее в автономном режиме для достижения соответствующей скорости во время реализации в реальном времени. Амплитуда стимуляции линейно модулировалась в зависимости от сигнала датчика давления, как было предложено в Valle et al. (HNM-1) (39). В LIN и DISC частота стимуляции была фиксированной (тоническая стимуляция) с точностью до 50 Гц (7). Во время функциональных экспериментов, описанных в этой работе, три тактильных канала (вызывающие ощущения на пятке, латеральной или медиальной и фронтальной метке) использовались для сенсорной обратной связи во всех условиях. Доставляемый заряд аналогичным образом модулировался по трем возбуждающим каналам, но в другом диапазоне. Каждый канал был

модулирован между его пороговым и максимальным значениями заряда, определенными в последнем сеансе сравнения. Модели биомиметической стимуляции, принятые на трех каналах, были выбраны в соответствии с естественностью, воспринимаемой на каждой площади стопы (рис. S3) у каждого имплантированного участника. В частности, FAI биомиметическая стимуляция для лобной, латеральной и пяточной для S1 и S2, в то время как FULL биомиметическая стимуляция для латеральной как для S1, так и для S2.

1.10 Тестирование на лестнице

Во время теста на лестнице S1 и S2 были протестированы в сеансах по 30 с по 10 раз в каждом условии. Установка была сконфигурирована в виде угловой лестницы, наделенной шестью ступенями высотой 10 см и глубиной 28 см с одной стороны и четырьмя ступенями высотой 15 см и глубиной 27,5 см с другой. Участников попросили идти по часовой стрелке, поднимаясь вверх по шести ступеням и спускаясь по четырем ступеням. Сеансы ходьбы проводились в четырех различных условиях: (i) отсутствие обратной связи; (ii) линейная нейромодуляционная обратная связь; (iii) дискретная по времени нейромодуляционная обратная связь; (iv) биомиметическая нейромодуляционная обратная связь. Все условия стимуляции были случайным образом представлены добровольцам. Скорость походки для этой задачи была указана в пересчете на количество кругов, как это делалось ранее [47]. Круг предназначен для подъема и спуска по лестнице и возвращения в исходное положение. Большее количество пройденных кругов свидетельствует о более высокой скорости, и наоборот. S1 и S2 выполнили эту задачу.

1.11 Двойная когнитивная задача

В когнитивной двойной задаче сначала S1 и S2 были проинструктированы пройти вперед 5 м (исходный уровень, рис. S 4) 10 раз для 4 условий (BIOM, LIN, DISC и NF), выполняемых в случайном порядке. Далее их попросили пройти одинаковое расстояние, выполняя двойную задачу. В частности, они должны были произносить задом наперед на своем родном языке (сербском) слово из пяти букв, которое ранее не встречалось. Кроме того, это задание было выполнено 10 раз по 4 условиям (BIOM, LIN, DISC и NF), выполняемым в случайном порядке. Во время выполнения когнитивной двойной задачи участниками регистрировались как скорость ходьбы (м/с), так и точность выполнения (% правильных букв) (рис. 6b). S1 и S2 выполнили эту задачу.

1.12 Оценка уверенности участников во время выполнения двигательной задачи

В конце каждого тестирования на лестнице участникам предлагалось оценить свою уверенность во время выполнения двигательной задачи, используя визуальную аналоговую шкалу (от 0 до 10). Данные были получены в условиях BIOM, LIN, DISC и NF в S1 и S2.

1.13 Статистический анализ

Все данные были экспортированы и обработаны оффлайн в Python (3.7.3, Python Software Foundation), с использованием пакетов "SciPy" и "NumPy", и MATLAB (R2020a, The MathWorks, Natick, USA). Все данные были представлены в виде средних значений \pm SD (если не указан другой формат представления данных). Нормальность распределения данных оценивали с помощью критерия Колмогорова–Смирнова с использованием функции Matlab "kstest". Для визуального контроля распределения мы использовали квантиль-квантильный график (QQ-plot) с помощью функции Matlab "qqplot". QQ строит графики квантилей данных в зависимости от теоретических значений квантилей из нормального распределения. Если распределение данных нормальное, график выглядит линейным. Кроме того, мы проверили гистограмму точек данных. Если данные распределены примерно нормально, гистограмма должна напоминать колоколообразную кривую. В случае гауссова распределения был применен односторонний дисперсионный анализ с использованием функции Matlab "anova1". Кроме того, сравнение двух и более групп было выполнено с помощью теста Краскела-Уоллиса и пост-хок теста по Данну. Различия считали значимыми при $p < 0,05$ (если в подписях к рисункам не указана другая информация).

2. Результаты

Для разработки оптимальной стратегии нейростимуляции, основанной на биоинспирированных вычислениях, способных эффективно передавать соматоощущения, мы использовали тройную структуру, включающую вычислительное моделирование, испытания на животных и клинические испытания на людях (Рис. 1). Вычислительное моделирование заключалось в разработке стратегий нейростимуляции для имитации вычислений естественного прикосновения, сформированных моделированием *in silico*, называемой FootSim [46]. Эта модель позволяет имитировать пространственно-временную динамику естественного кода прикосновения, учитывая все тактильные афференты, иннервирующие подошвенную область стопы. Экспериментальные этапы включали испытания на животных, где мы показали, что биомиметическая парадигма передается через соматосенсорную ось по той же нейронной динамике от периферии к спинному мозгу. Нейронные реакции, вызванные на нескольких уровнях соматосенсорной оси, показали большее сходство с нейрональной активностью, вызванной естественным прикосновением,

по сравнению со стандартными методами стимуляции, что позволяет предположить, что эти биомиметические паттерны потенциально могут быть оптимальной стратегией кодирования при нейропротезировании у человека. Действительно, мы реализовали сенсорное кодирование в нейропротезе ноги с замкнутым контуром, сравнивая как естественность ощущений, так и эффективность обратной связи в контексте повседневной жизни.

2.1 Парадигмы биомиметической нейростимуляции, разработанные с использованием реалистичной *in silico* модели афферентов подошвы стопы (FootSim)

Использовалась вычислительная модель кожных афферентов подошвы стопы (FootSim) (46) для разработки стратегий биомиметической стимуляции.

FootSim способна имитировать пространственно-временную динамику естественного прикосновения, учитывая активацию всех тактильных афферентов, иннервирующих подошвенную область стопы (65). Эта модель представляет собой инструмент plug-and-play (“подключи и пользуйся”), основанный на данных микронейрографии человека, который моделирует механический вход из внешней среды и дает на выходе соответствующую нейрональную афферентную активность (Рис. 2а). При настройке среды пользователь произвольно заполняет подошву стопы, в зависимости от ситуации и предполагаемого использования. Стопа может быть заполнена или модифицированным распределением определенного типа афферентов или всей популяции афферентов. FootSim позволяет применять различные механические раздражители и моделировать как отдельные механические стимулы, прикладываемые к определенным участкам подошвы, так и сценарии, имитирующие ходьбу человека. Это достигается путем извлечения распределения давления по всей подошве стопы с разными временными отрезками. (Рис. 2а слева). Вывод FootSim может быть структурирован в нескольких формах. Мы можем извлечь спайковые последовательности одного афферента, суммарной популяционной активности или пространственно представить активность афферентов, размещенных в подошве стопы, закодировав их скорость возбуждения площадью круга (рис. 2а справа).

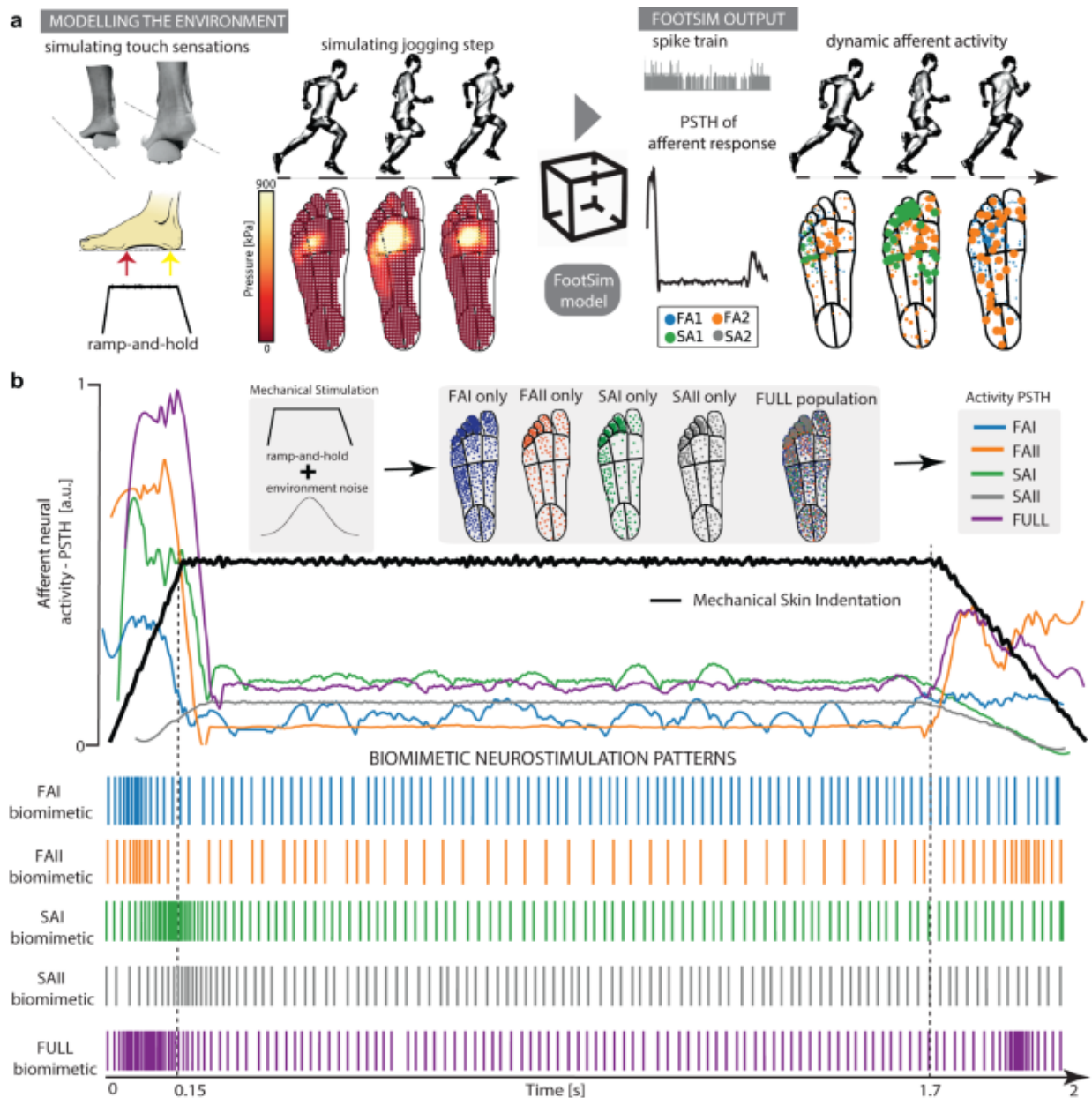


Рисунок 2 - Паттерны биомиметической нейростимуляции, разработанные с использованием реалистичной in-silico модели афферентов подошвы стопы (FootSim).

(а) Схематическое изображение практического использования модели FootSim.

Окружающая среда моделируется как одиночный или непрерывный механический стимул. Пользователь может применять различные типы стимулов или моделировать сценарий ходьбы, а стимулы подаются в качестве входных данных для модели в виде распределения давления на подошве стопы. На выходе получается афферентный нейронный ответ, который может быть представлен несколькими способами: в виде одиночной цепи спайков, пространственно представленной на подошве стопы путем сопоставления частоты срабатывания афферента с площадью круга, расположенного в позиции афферента, или в виде популяционного ответа с помощью перистимульной временной гистограммы (PSTH - peristimulus time histogram). (b) Подошва для ног заполнена одним типом афферентов или всей реалистичной популяцией (FAI/FAII/SAI/SAII/ПОЛНАЯ популяция; FA - быстрая адаптация (fast adapting); SA – медленная адаптация (slowly adapting); I/II — тип 1 или тип 2). Были использованы стимулы в виде нарастающего и удерживающего стимула в сочетании с шумом окружающей среды, который наложили на всю область стопы (черная линия). Нейронные реакции всей прикладной популяции представлены в виде временной перистимульной

гистограммы (цветных линий). Это было использовано в качестве функции для изменения частоты для определения биомиметических стимулирующих паттернов. Амплитуда оставалась постоянной во всех биомиметических парадигмах. Все популяционные распределения, афферентные реакции и соответствующие паттерны биомиметической стимуляции имеют цветовую кодировку: FAI: синий; FAII: оранжевый; SAI: зеленый; SAII: серый; FULL: фиолетовый

При разработке биомиметических паттернов мы также преследовали цель выяснить, может ли естественный сигнал кодироваться в нейронных реакциях, специфичных для афферентных типов. Мы создали пять различных сценариев, заполнив подошву ноги различными типами афферентов (Рис. 2b: FAI/FAII/SAI/SAII) или с полной популяцией афферентов стопы (Рис. 2b: FULL). Мы применили стимул с подъемом и удержанием, добавив шум окружающей среды, чтобы имитировать несовершенство реалистичных стимулов давления (Рис. 2b черная линия). Мы рассчитали перистимульную временную гистограмму (PSTH), объединив все афферентные ответы на основе сценария (рис. 2b цветные линии). Мы использовали сглаженные значения PSTH для модуляции частоты стимуляции при сохранении постоянной амплитуды и создания парадигм биомиметической нейростимуляции. (Рис. 2b: FAI/FAII/SAI/SAII/FULL).

2.2 Передача нейростимуляционной динамики через соматосенсорную ось

Мы зарегистрировали внутриспинальные нейронные реакции и активность в дорсальном корешковом ганглии, чтобы иметь возможность сравнить паттерны стимуляции, учитывающими биологические и небиологические факторы, и изучить их передачу через соматосенсорную ось. Кошки были децеребрированы для того, чтобы можно было анализировать только рефлекторные реакции, избегая интерференции сигнала с произвольными движениями [66]. Кроме того, эта процедура позволяет проводить тестирование без использования анестезии, которая потенциально может изменить нейронные реакции [67]. Мы имплантировали манжетные электроды на большеберцовый нерв для электрической стимуляции и настроили амплитуду стимуляции так, чтобы она была чуть выше порога. Порог был определен как амплитуда, которая четко вызывала потенциалы в спинном мозге в ответ на низкочастотную стимуляцию. Так как многоэлектродные матрицы оказались лучшим инструментом для исследования процессов в спинном мозге [68], мы извлекли нейронные сигналы из дорсовентрального 32-канального линейного зонда, имплантированного в ганглий дорсального корешка спинномозгового сегмента L6. Кроме того, (Рис. 3а) мы записали нейронные сигналы в дорсальном корешковом ганглии на уровне L6 с помощью массива УТАН с 32 каналами, поскольку он содержит тела клеток и аксоны сенсорных единиц с периферии [69].

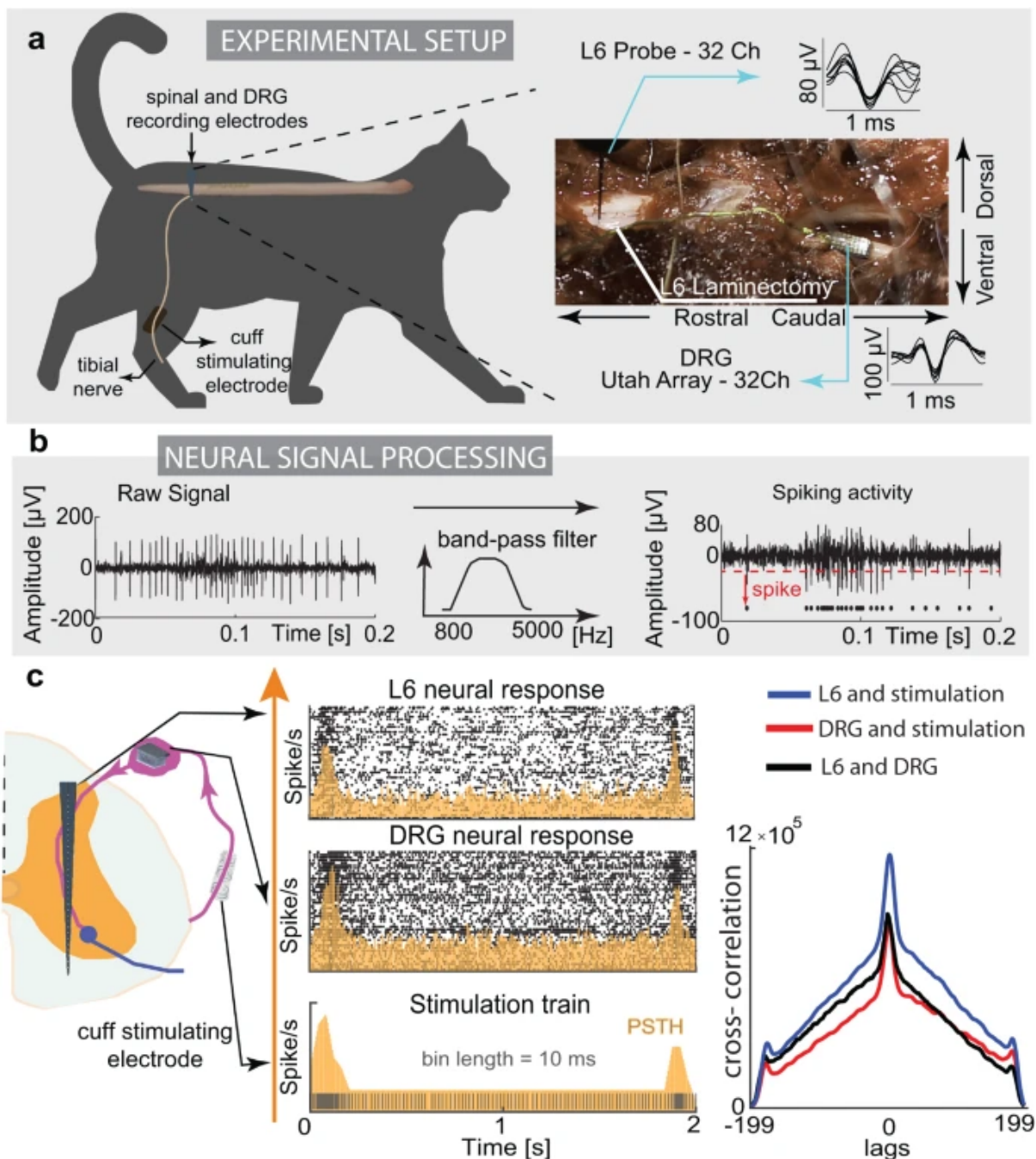


Рисунок 3 - Эксперименты на животных для изучения нейронной динамики с помощью нейростимуляции.

- (а) Экспериментальная установка для проведения нейрофизиологических экспериментов на децеребрированных кошках. Большеберцовый нерв стимулировался с помощью манжетного электрода, регистрация нейронного ответа проводилась на уровне позвоночника; верхняя часть: обнаженный спинной мозг на уровне L6 и ганглий дорсального корешка с примерами зарегистрированных спайков от спинального линейного электродного зонда и массива УТАН на ганглии. (б) Получение множественной нейрональной активности. Сигнал был отфильтрован для извлечения спайкового компонента и обнаружения потенциалов нейронного действия с помощью алгоритма порогового значения. (с) Слева: Пример парадигмы биомиметической стимуляции и записанного ответа в одном канале спинного мозга и электродов ганглия дорсального корешка. Нейронная активность представлена и количественно определена с помощью растрового графика (черные точки) и временной гистограммы перистимула (PSTH, желтый, длина ячейки 10 мс). Каждая строка растрового графика представляет

собой реакцию на один биомиметический паттерн (2 с), в то время как каждая точка соответствует потенциалу действия. Справа: сравнили PSTH из разных состояний и представили их с помощью взаимной корреляции (синий: нейронный ответ и паттерн стимуляции L6; красный: нейронный ответ и паттерн стимуляции ганглия дорсального корешка; черный: нейронные реакции L6 и DRG)

Были проверены различия в нейрональной динамике, возникающие в результате стимуляции большеберцового нерва с помощью биомиметических парадигм и тонической модели 50 Гц, которая обычно используется в нейропротезировании. Также провели многожественный анализ пересечения порога для определения нейронной спайковой активности (Рис. 3b), представили результаты в виде растрового графика и количественно оценили их с помощью временной гистограммы перистимула (PSTH) (см. раздел «Методы»). Временная динамика паттерна нейронной активации сильно коррелировала с частотой нейростимуляции (Рис. 3с). Мы рассчитали взаимную корреляцию PSTH, полученную из стимуляции и нейрональных реакций, зарегистрированных в ганглии дорсального корешка и спинном мозге. Значения взаимной корреляции, возникающие при сравнении формы стимуляции, сигнала в дорсальном корешковом ганглии и спинального нейронального ответа, высоки. Это подтверждает гипотезу о том, что биомиметический паттерн активации иннервировался в дорсальный корешковый ганглий и спинной мозг, сохраняя ту же пространственно-временную нейронную динамику. Другими словами, глядя на PSTH одноэлектродных каналов, мы заметили, что множественные периферические афферентные реакции следуют биомиметическому паттерну и, таким образом, кодируют искусственную тактильную информацию.

Эти данные убедительно подтверждают идею о том, что электрическая нейронная стимуляция может служить высокоэффективным инструментом для создания искусственных паттернов нейронных активаций, которые могут быть эффективно транслированы в верхние отделы соматосенсорной системы. Кроме того, биомиметические паттерны нейростимуляции, индуцированные на уровне периферических нервов, вызывают очень похожую пространственно-временную нейронную динамику в спинном мозге.

2.3 Нейронная реакция, вызванная биомиметической стимуляцией, более схожа с естественной реакцией на механическую активность, чем реакция, вызванная тонической электрической стимуляцией

Мы основываем наши гипотезы об инициации восприятия, близкого к естественному, с помощью биомиметической стимуляции, на ее способности кодировать и воспроизводить естественные нейронные паттерны. Мы записали и сравнили нейронные реакции в ганглии дорсального корешка и спинном мозге, возникающие в результате

различных видов электрической стимуляции, с естественно индуцированной нервной активностью, вызванной прикосновением к кошачьей ноге ватной палочкой.

Сравнение характеристик электрически вызванной нейронной динамики, возникающей в результате прикладной биомиметической, небомиметической и естественной стимуляции, подтвердило предыдущие теории (31,37,39). Было подтверждено, что временной паттерн кодирования вызванной реакции, использующей биомиметическую нейростимуляцию, был более похож на тот, который генерируется механической стимуляцией кожи животного, чем на тот, который индуцируется тонической стимуляцией. Многоэлементная спайковая активность представлена с помощью PSTH (Рис. 4а). Рассчитали средняя нервная активность, произведенная в период электрических или естественных стимулов, для оценки общего объема информации, от спинного мозга и ганглия дорсального корешка. Нормализовали активность PSTH каждого условия в диапазоне $[0,1]$, разделив каждую точку сигнала на максимальное значение сигнала (Рис. 4а, справа). Затем суммировали активность для каждого условия и разделили ее на максимальную активность между тремя условиями. Столбцы показывают общую нормализованную активность для трех условий (Рис. 4а, справа). Метрика обратно пропорциональна дисперсии значений PSTH в зависимости от условия. Естественное прикосновение и биомиметическая стимуляция приводили к аналогичным значениям, в то время как тоническая стимуляция вызывала гораздо более высокую активность в спинном мозге и ганглии. Мы предположили, что во время тонической стимуляции спинномозговые нейронные сети перегружены постоянно индуцированной синхронизированной информацией, что может вызвать парестезию (34,70). Сходство нейронной естественной активности и активности, вызванной биомиметической стимуляцией, объясняет почему биомиметическая стимуляция воспринимается как более естественная. Форма PSTH и ее огибающая дали представление о том, как изменяется нейронная активность в период стимуляции (естественной, тонической или биомиметической). Биомиметическая стимуляция дает больше аналогичной активности, чем естественное прикосновение по сравнению с тонической стимуляцией (Рис. 4а, справа). Закодированное сообщение представлено в нейронной динамике активации. Результаты показывают, что информация, полученная с помощью биомиметической стимуляции, лучше соответствует нейронному кодированию естественного прикосновения, чем при тонической стимуляции.

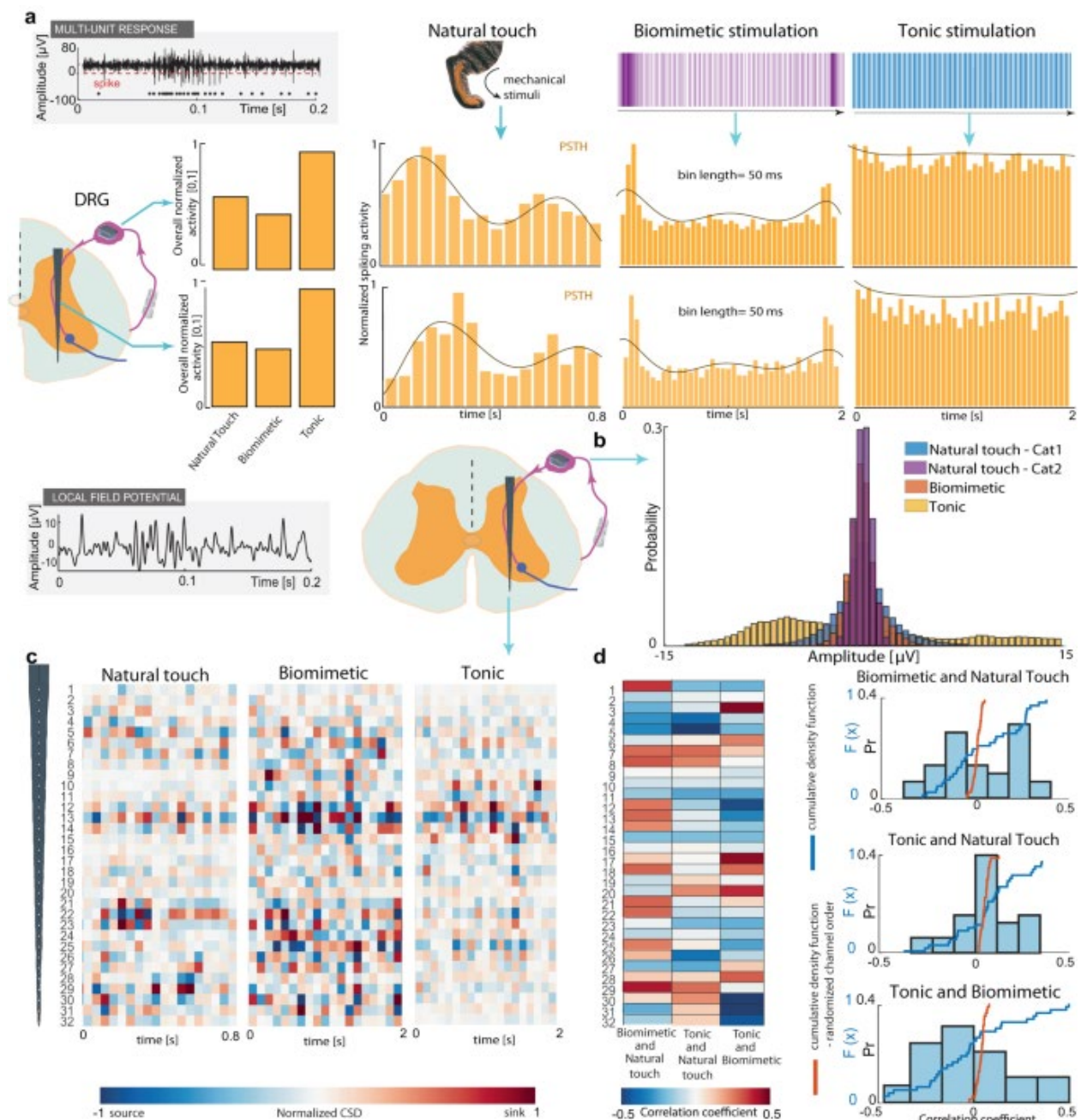


Рисунок 4 - Нейронная реакция на биомиметическую стимуляцию больше похожа на реакцию на естественное прикосновение, чем на тоническую стимуляцию.

(а) Сравнение нейронной реакции на естественную сенсорную, биомиметическую или тонирующую (50 Гц) стимуляцию. Мы сравнили сигнал, зарегистрированный в ганглии дорсального корешка и спинном мозге (уровень L6). Общий уровень нейронной активности во время каждого условия суммирован, нормализован и представлен в виде столбцов для сравнения (слева). Примеры пиковой активности с течением времени во время каждого условия представлены с помощью временной гистограммы перистимула (PSTH) (справа) с интервалом времени 50 мс. Коричневые линии представляют собой огибающую нейронной активности. (б) Сравнение локального полевого потенциала (LFP - local field potential), зарегистрированного в ганглии в результате естественного прикосновения при биомиметической и тонической стимуляции. К анализу была добавлена естественная реакция на прикосновение, зарегистрированная у животного.

Сравнили распределение значений амплитуды LFP с использованием метрики дивергенции Кульбака-Лейблера. (с) Сравнение плотности источника тока (CSD - current source density), рассчитанной на основе LFP, зарегистрированного в спинном мозге в

результате естественного прикосновения, биомиметической или тонической стимуляции. CSD нормализуется для каждого состояния и представляется по длине электрода с интервалом 100 мс для электрической стимуляции и 40 мс для естественного прикосновения. (d) Слева: корреляция CSD между биомиметическими/тоническими и естественными условиями прикосновения и биомиметической и тонической стимуляцией, канал за каналом, цветовая кодировка. Справа: Гистограмма и кумулятивная функция распределения (cdf - cumulative distribution function) значений коэффициента корреляции, полученных в результате сравнения биомиметической/тонической стимуляции и естественного прикосновения (вверху/посередине) и биомиметической и тонической стимуляции (внизу). Синяя линия представляет cdf при сопоставлении и сравнении каналов записи. Красная линия соответствует cdf, когда каналы случайным образом перемешиваются и сравниваются. Исходные данные предоставляются в виде файла исходных данных

Локальные полевые потенциалы (LFP - local field potential) отражают суммарную активность небольшой популяции нейронов, представленную их внеклеточными потенциалами [71], которые отображают динамику сети [72]. Проведен анализ усредненного по триггеру сигнала LFP для различных стимулирующих условий. Мы выделили наиболее активные каналы дорсального корешкового ганглия, в которых были видны четкие LFP, и исследовали вариации их амплитуды. Более подробно мы сравнили амплитудное распределение зарегистрированных LFP с использованием метрики дивергенции Куллблэка-Лейблера (KL - Kullback–Leibler) (Рис. 4b). Благодаря этому было показано, как одно распределение вероятностей расходится со вторым, ожидаемым распределением вероятностей. Чем больше дивергенция KL, тем более непохожи два распределения. В нашем случае ожидаемое распределение – это распределение, возникающее в результате естественного прикосновения. Поэтому мы сравнили реакцию биомиметической и тонической стимуляции с реакцией на естественное прикосновение (биомиметическая и естественная $KL = 0,26$; тоническая и естественная $KL = 2,06$). Кроме того, мы протестировали естественное прикосновение еще у одной кошки, чтобы исследовать сходство нейронной динамики ($KL = 0,66$) разных животных. Эти данные свидетельствуют о том, что естественно вызванная реакция следует конкретной, потенциально обобщаемой тенденции, а не является полностью индивидуальной.

Плотность источника тока (CSD - current source density) — это метод анализа внеклеточного тока, генерируемого популяцией нейронов. Он может оценить местоположение и величину источников и приемников тока, которые вносят свой вклад в измеряемые электрические сигналы. Поэтому мы использовали его для сравнения пространственного распределения нейронной активности в популяции нейронов вдоль массива электродов в сером веществе спинного мозга. CSD, оцененную на основе потенциалов локального поля, индуцированных биомиметической, тонической

электростимуляцией или естественным прикосновением, представлена на рисунке 4с. Визуально изучив пространственное распределение приемников и источников вдоль оси позвоночника и сравнив общие коэффициенты корреляции Пирсона между CSD, возникающими в различных условиях, мы можем сделать вывод, что естественно индуцированная реакция на прикосновение была более похожа на нейронный сигнал, возникающий в результате биомиметической стимуляции (коэффициент корреляции = 0,11, $p = 0,005$, $\alpha = 0,05$, доверительный интервал = [0,03, 0,19]), чем с полученным при постоянной электростимуляции с частотой 50 Гц (коэффициент корреляции = -0,03, $p = 0,344$, $\alpha = 0,05$, доверительный интервал = [-0,11, 0,04]). Биомиметическая и тоническая стимуляция показали отрицательное сходство CSD (коэффициент корреляции = -0,13, $p = 0,001$, $\alpha = 0,05$, доверительный интервал = [-0,2, -0,05]). Мы представили поканальное сравнение с цветовой кодировкой (коэффициент корреляции Пирсона) полученных CSD вдоль спинального электрода (рис. 4d, слева) и количественно оценили результаты с помощью гистограммы и результирующей кумулятивной функции распределения (CDF) (рис. 4d, справа). CDF описывает вероятность того, что случайная величина примет значение меньше или равно указанному числу и будет использована для сравнения распределений, отражающих сравнение между CSD в различных условиях. Тоническая стимуляция и естественное прикосновение вызывают нейронные реакции с коэффициентом корреляции, очень близким к 0 в большинстве каналов, в то время как этот коэффициент выше для сравнения между естественным прикосновением и биомиметической стимуляцией. Чтобы убедиться в том, что это сходство не является случайным, мы рандомизировали порядок каналов в условиях биомиметической и тонической электростимуляции и сравнили записи с реакцией естественного прикосновения. В результате была получена корреляция, близкая к 0 для каждого электродного канала, что подтвердило валидность использованных аналитических подходов.

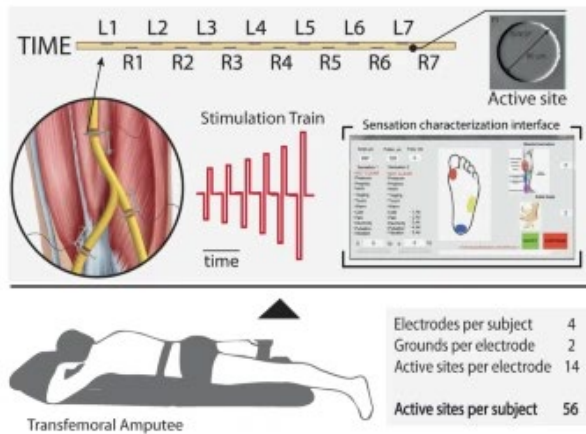
Кроме того, мы проанализировали, насколько нейрональный сигнал изменяется вдоль поперечных осей позвоночника. Мы сравнили коэффициенты корреляции Пирсона между LFP в первом канале интраспинального массива и всеми остальными каналами (Рис. S1). В условиях естественного прикосновения сходство между нейрональной активностью высоко в первых нескольких каналах (коэффициент корреляции 2-го канала равен 0,37, 3-го 0,34, 4-го 0,1; $p < 0,001$, $\alpha = 0,05$), и уменьшается при рассмотрении большего количества вентральных записей (менее 0,1 коэффициента корреляции, что приводит к медианному значению коэффициента корреляции 0,04, 25-му перцентилю 0,02 и 75-му перцентилю 0,05). Когда нерв подвергался электрической стимуляции, сходство между нейронной активностью, зарегистрированной на различных каналах через спинномозговой массив,

было высоким (FA1: медиана 0,94, 25-й проц. 0,90, 75-й проц. 0,95; FA2: медиана 0,86, 25-й проц. 0,80, 75-й проц. 0,92; SA1: медиана 0,87, 25-й проц. 0,83, 75-й проц. 0,89; SA2: медиана 0,92, 25-й проц. 0,88, 75-й проц. 0,93; Рис. S1). Биомиметическая нейростимуляция вызвала меньшее сходство по осям позвоночника, чем тоническая стимуляция (биомиметическая FULL: медиана 0,6, 25-й проц. 0,45, 75-й проц. 0,67; тоническая стимуляция 50 Гц: медиана 0,88, 25-й проц. 0,83, 75-й проц. 0,9; Рис. S1). Полнопопуляционный биомиметический паттерн оказался более перспективным по сравнению с парадигмами, созданными путем имитации реакции конкретных афферентных типов. Несмотря на значительные отличия от естественного прикосновения, биомиметическая стимуляция, основанная на совокупности афферентных реакций, имеет поразительное сходство с ним, что значительно отличает его от тонической стимуляции 50 Гц (значения p: FA1- FULL biom: <0,001; FA2 - FULL biom: 0.001; SA1- FULL biom: 0.01; SA2- FULL biom: <0.001; 50 Гц - FULL biom: 0,001; Естественная стимуляция - FULL biom: 0.035; 50 Гц - Естественный: p < 0,001; уровень значимости 1%, $\chi^2 = 187,4$).

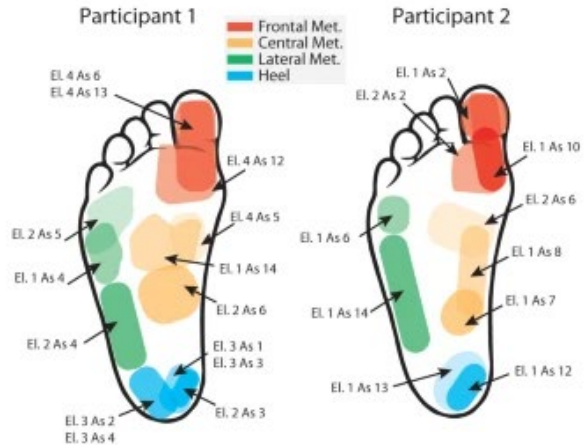
2.4 Биомиметическая нейростимуляция вызывает более естественные ощущения, чем небимиметическая

Чтобы проверить функциональное значение использования биомиметической нейростимуляции, мы внедрили и протестировали ее в клинических испытаниях на людях. Наша первая цель состояла в том, чтобы проверить кодирование биомиметической нейростимуляции путем оценки качества вызываемых ощущений. Затем нейророботизированное устройство для исследования стратегии биомиметического кодирования в режиме реального времени, должно быть сравнено с устройствами со стандартными подходами к кодированию с точки зрения функциональных характеристик. Мы имплантировали трем трансфеморальным ампутантам (Табл. S1) электроды TIME в большеберцовую ветвь седалищного нерва (рис. 5a). После проведения процедуры определения характеристик ощущений, в ходе которой были протестированы все 56 активных участков электродов, для этой оценки была выбрана подгруппа электродных каналов. В частности, были выделены группы активных центров, вызывающих ощущения, расположенные в фронтальной, центральной, латеральной плюсне и пятке (Рис. 5b и Рис. S2). Таким образом, выбранные каналы электрически активировали различные группы смешанных афферентов с проекционными полями в разных областях фантомной стопы (с разным распределением иннервирующих волокон).

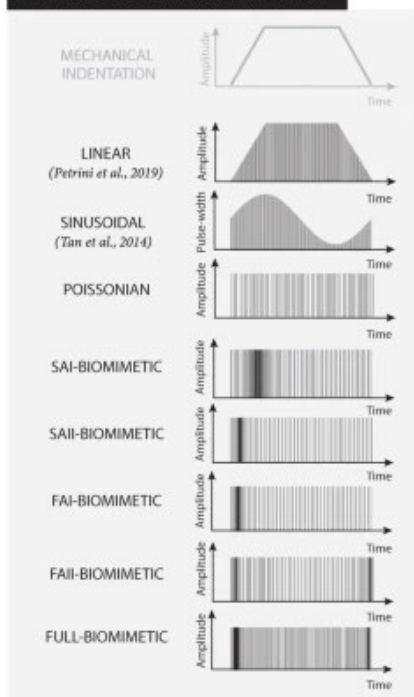
a HUMAN PERIPHERAL NERVE IMPLANTS



b ELECTRICALLY-EVOKED SENSATION LOCATIONS



c NEURAL STIMULATION PATTERNS



d PERCEIVED SENSATION NATURALNESS

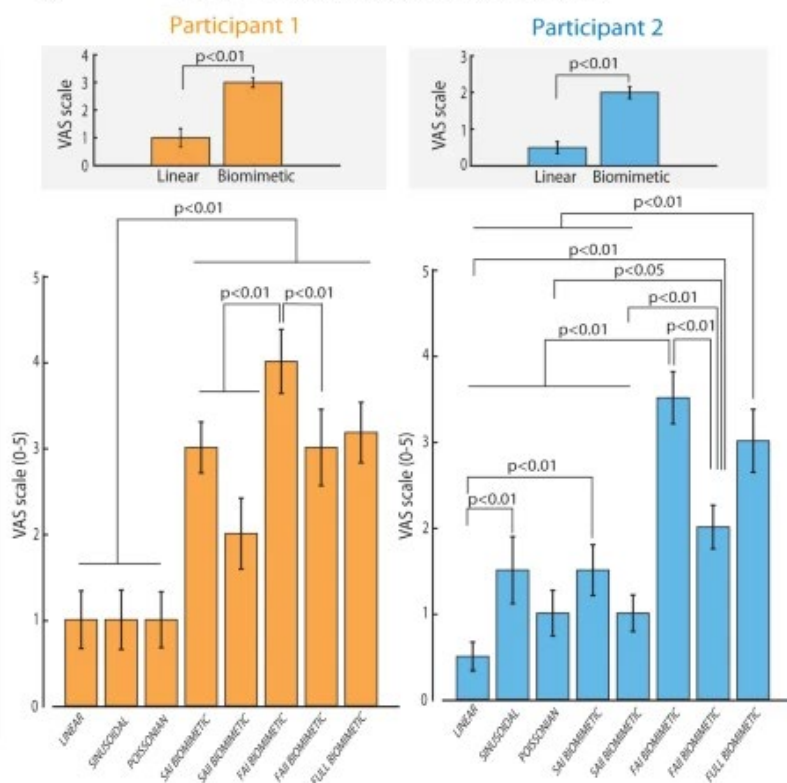


Рисунок 5 - Биомиметическая нейростимуляция вызывает более естественное восприятие у людей, чем небимиметические подходы.

(а) Лицам с ампутацией нижних конечностей имплантировали TIME в большеберцовые нервы. Многоканальные электроды использовались для непосредственной стимуляции периферических нервов, вызывая ощущения непосредственно на фантомной стопе. Сегменты верхней части панели взяты с разрешения (106) (b) Карта проекций полей двух имплантированных участников (1 и 2), относящихся к активным центрам (АЦ), принятым для электрической стимуляции нервов. Разными цветами обозначены четыре основные области фантомной стопы (фронтальная, латеральная центральная плюсна и пятка). (c) Биомиметические и небимиметические стратегии нейростимуляции, принятые для кодирования механического углубления подошвы стопы. Линейная нейростимуляция и синусоидальная нейростимуляция осуществляется путем (10) (d) Оценки естественности (визуально-аналоговая шкала от 0 до 5) воспринимаемых ощущений, вызванных использованием различных стратегий стимуляции у двух участников. Вставки: Групповое сравнение линейной и биомиметической стимуляции - сравнили условия с помощью теста

Краскела-Уоллиса ($n = 75$ повторений стимуляции для участника №1 и $n = 33$ повторения стимуляции для участника №2). Была внесена корректировка post-hoc. BIOM-LIN: S1: $p < 0,001$, $f = 0,62$; S2: $p < 0,001$, $f = 0,89$) Данные представлены в виде медианных значений $\pm SD$

Затем было реализовано несколько стратегий, кодирующих механическую деформацию кожи, для вывода последовательностей нейростимуляции через каждый выбранный канал интраневральных имплантов (Рис. 5с). Участников попросили оценить воспринимаемую естественность ощущений с помощью визуальной аналоговой шкалы от 0 (совершенно неестественное ощущение) до 5 (абсолютно естественное ощущение — углубление на коже) (39,73). У всех трех участников и во всех протестированных активных центрах (с различными проецируемыми полями) паттерны биомиметической нейростимуляции вызывали ощущения более естественные, чем при кодировании линейной нейростимуляции ($3 \pm 0,18$ при биомиметической по сравнению с $1 \pm 0,35$ при линейной для S1, $2 \pm 0,16$ при биомиметической по сравнению с $0,5 \pm 0,17$ при линейной для S2 и $2 \pm 0,36$ при биомиметической по сравнению с $1 \pm 0,18$ при линейной для S3 на всех протестированных электродах) (S1: $p < 0,001$, $f = 0,62$; S2: $p < 0,001$, $f = 0,89$; S3: $p = 0,0026$, $f = 1,01$) (Рис. 5d и Рис. S3), которое на данный момент исполнено в различных нейропротезах (8,26). Более того, биомиметическое кодирование приводит к более естественным воспринимаемым ощущениям по сравнению с небюиметрическим синусоидальным (S1: $p < 0,001$ для SAI, FAI, FAII, FULL Biomimetic, $p = 0,002$ для SAII; S2: $p = 0,011$ для FAI, $p = 0,016$ для FULL Biomimetic; S3: $p = 0,035$ для FAII, $p = 0,019$ для FULL Biomimetic) и частотно-вариативной стимуляцией Пуассона (S1: $p < 0,001$ для SAI, SAII, FAI, FAII, FULL Biomimetic; S2: $p < 0,001$ для FAI, FULL Biomimetic, $p = 0,039$ для FAII; S3: $p = 0,008$ для SAII, $p = 0,001$ для FAI, FULL Biomimetic), что указывает на важность индуцирования динамики нейронной активации, имитирующей естественный биологический код.

Несмотря на то, что было протестировано несколько биомиметических парадигм (SAI-, SAII-, FAI-, FAII-подобных и Full biomimetic), ни одна из них не оказалась лучшей. Биомиметическая стимуляция вызывала больше естественных ощущений, чем тоническая стимуляция, но анализ результатов для каждого места у обоих участников (Рис. S3) не показал каких-либо явных доказательств оптимальной схемы биомиметического кодирования. Вероятно, это было вызвано разным составом волокон, активируемых электродными каналами в разных областях стопы (74). На самом деле, воспринимаемые области при стимуляции были разными в зависимости от активного центра, выбранного для стимуляции, что указывает на другую группу смешанных афферентов, привлеченных

нейростимуляцией. Мы предположили, что важна не только доля волокон SA и FA, но и их роль в кодировании информации о прикосновении в этой конкретной области.

Эти результаты показали, что биомимикрия является фундаментальной особенностью электрической нейронной стимуляции для успешного восстановления более естественной соматосенсорной информации.

2.5 Биомиметическая нейростимуляция на нейророботизированном устройстве позволяет повысить подвижность и снизить когнитивную нагрузку

С целью разработки нейропротезного устройства, способного максимально заменить сенсомоторные функции естественной конечности, биомиметическая нейростимуляция была реализована в роботизированной системе реального времени. Эта носимая система состояла из: (i) регистрирующей стельки с несколькими датчиками давления, (ii) микропроцессорного протеза коленного сустава с податливой стопой (Ossur, Исландия), (iii) портативного микроконтроллера, запрограммированного на основе биомиметических алгоритмов сенсорного кодирования, (iv) многоканального нейростимулятора; (v) внутринеурональных электродов, имплантируемых в периферические нервы (TIMEs).

Нейропротез записывал информацию о давлении в режиме реального времени с носимых датчиков во время ходьбы пациента и преобразовывал ее в паттерны биомиметической нейростимуляции, выводимые через TIME (подробнее о реализации см. в разделе «Метод»). Таким образом, пользователи могли воспринимать естественные соматотопические ощущения непосредственно из протеза ноги без какой-либо ощутимой задержки.

После реализации мы оценили эффекты использования биомиметического кодирования (BIOM) в нейророботизированном устройстве по сравнению с линейной (LIN) или дискретной по времени (DISC) стратегией нейростимуляции. В LIN показания датчиков преобразовывались в последовательности нейростимуляции в соответствии с линейной зависимостью между приложенным давлением и инжектированным зарядом (26). В случае DISC кратковременные низкоинтенсивные электростимуляционные тренировки подавались синхронно с фазовыми переходами походки (75,76). Кроме того, состояние без использования какой-либо нейрональной обратной связи (NF - neural feedback) было включено в моторные парадигмы в качестве контрольного состояния.

Таким образом, пользователям нейропротезов было предложено выполнить две двигательные задачи: задача с лестницей (ST - Stairs Task) [47] и когнитивная двойная задача (CDT - Cognitive Double Task) [48].

В исследовании ST результаты показали, что при использовании биомиметической нейростимуляции в нейророботизированной ноге оба пациента увеличили скорость ходьбы ($4,9 \pm 0,1$ для S1 и $4,3 \pm 0,4$ для S2 кругов за сессию) по сравнению с LIN ($4,5 \pm 0,1$, $p < 0,001$ для S1 и $3,8 \pm 0,1$, $p = 0,047$ для S2 кругов за сессию), DISC ($4,6 \pm 0,1$, $p = 0,004$ для S1 и $3,6 \pm 0,1$, $p = 0,047$ для кругов S2 за сессию) и NF ($4,3 \pm 0,1$, $p < 0,001$ для S1 и $3,5 \pm 0,1$, $p < 0,001$ для S2 кругов за сессию) (общая величина эффекта, $f = 2,14$ для S1, $f = 1,5$ для S2) (Рис. 6а). Интересно, что уверенность в себе (визуально-аналоговая шкала 0–10) при ходьбе по лестнице также увеличивалась, когда участники использовали нейропротез с биомиметической нейрообратной связью ($9,75 \pm 0,26$ для S1 и $6 \pm 0,3$ для S2) по сравнению с LIN ($8,75 \pm 0,62$, $p = 0,015$ для S1 и $5,37 \pm 0,23$, $p = 0,014$ для S2), DISC ($7,83 \pm 0,39$, $p < 0,001$ для S1 и $5,17 \pm 0,25$, $p < 0,001$ для S2) и NF ($6,67 \pm 0,49$, $p < 0,001$ для S1 и $3,83 \pm 0,25$, $p < 0,001$ для S2) (общая величина эффекта, $f = 2,57$ для S1, $f = 3,09$ для S2) (Рис. 6а).

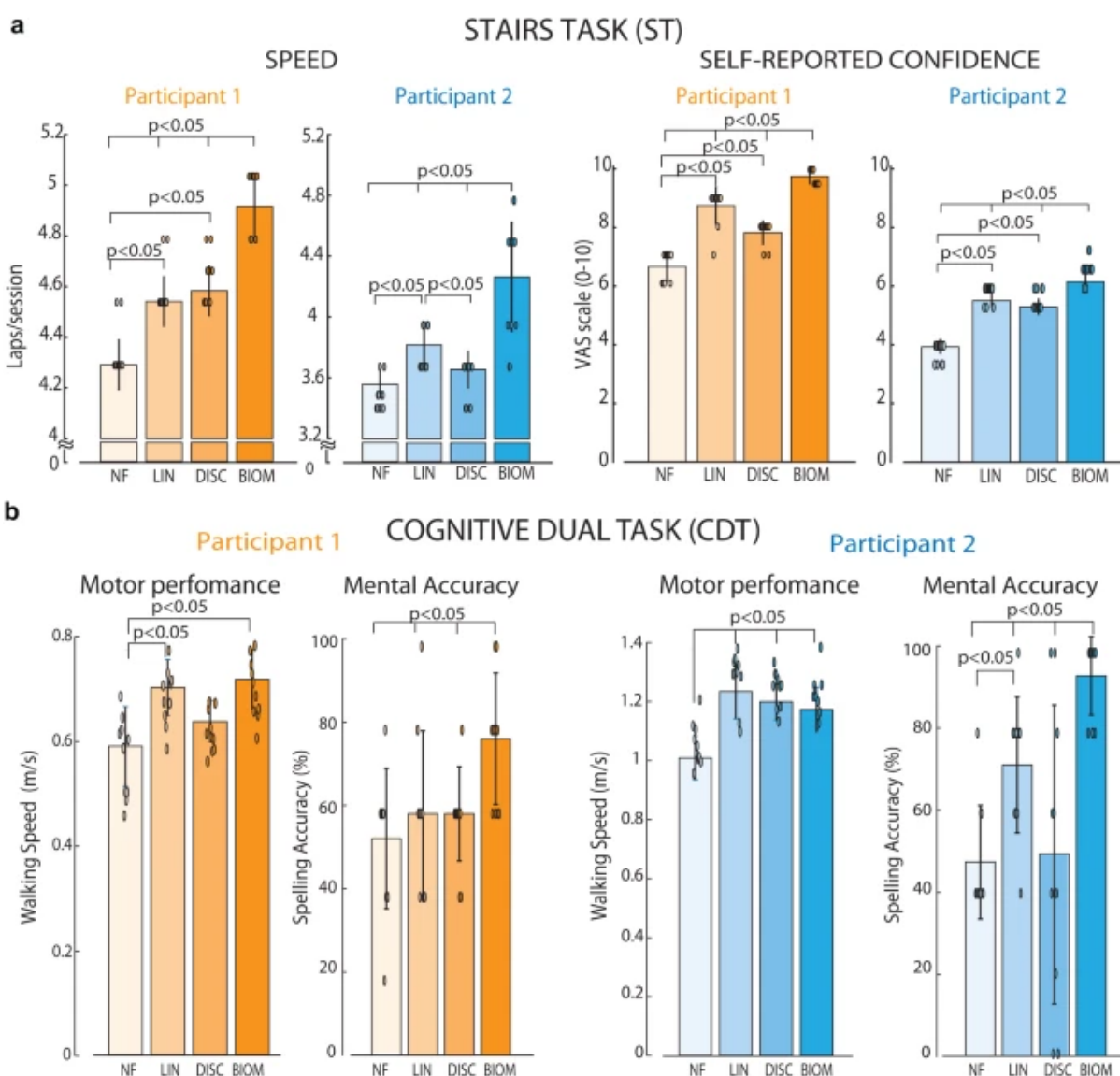


Рисунок 6 - Биомиметическая нейронная обратная связь в реальном времени обеспечивает более высокую скорость и меньшую когнитивную нагрузку во время ходьбы.

(а) Скорость (круги/сессия) и уверенность в себе (визуально-аналоговая шкала 0–10) измерялись в ST ($n = 12$ повторений заданий для обоих участников). **(б)** Двигательная производительность (скорость ходьбы — м/с) и умственная точность (точность выполнения — %) участников 1 и 2 в когнитивной двойной задаче (CDT) ($n = 10$ повторений задачи для обоих участников). В обеих задачах используются следующие условия: NF (отсутствие обратной связи), LIN (линейная нейростимуляция), DISC (дискретная нейростимуляция) и BIOM (биомиметическая нейростимуляция). Эллипсы, перекрывающиеся со столбчатой диаграммой, представляют собой отдельные точки данных. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартным отклонением. Мы сравнили условия с помощью теста Краскела-Уоллиса. Была внесена корректировка *post-hoc*. Скорость ходьбы: BIOM-LIN: S1: $p < 0,001$, S2: $p = 0,047$; BIOM-DISC: S1: $p = 0,004$, S2: $p = 0,047$; BIOM-NF: S1,S2: $p < 0,001$ (общая величина эффекта, $f = 2,14$ для S1, $f = 1,5$ для S2) Достоверность: BIOM-LIN: S1: $p = 0,015$, S2: $p = 0,014$; BIOM-ДИСК: S1, S2: $p < 0,001$; BIOM-NF: S1,S2: $p < 0,001$ (суммарный размер эффекта, $f = 2,57$ для S1, $f = 3,09$ для S2). Исходные данные предоставляются в виде файла исходных данных

В CDT оба участника показали более высокую умственную точность в BIOM по сравнению с другими условиями ($p = 0,004$ для NF, $p = 0,016$ для LIN, $p = 0,028$ для DISC в S1; $p = 0,044$ для LIN, $p < 0,001$ для DISC и NF в S2; общая величина эффекта, $f = 0,57$ для S1 и $f = 0,97$ для S2), при сохранении той же скорости ходьбы. В частности, ментальная точность S1 составила $76 \pm 16\%$ в BIOM, $58 \pm 20\%$ в LIN, $58 \pm 11\%$ в DISC и $52 \pm 17\%$ в NF, в то время как в S2 $94 \pm 9,6\%$ в BIOM, $72 \pm 17\%$ в LIN, $50 \pm 37\%$ в DISC и $48 \pm 14\%$ в NF (Рис. 6б). Примечательно, что скорость ходьбы всегда была выше в условиях обратной связи по сравнению с NF для S2 ($p < 0,001$ для DISC, LIN и BIOM) и в BIOM ($p < 0,001$) и в LIN ($p = 0,002$) для S1 (общая величина эффекта, $f = 0,91$ для S1 и $f = 1,13$ для S2). Как и ожидалось, без добавления второстепенной задачи, не наблюдалось никакой разницы в скорости ходьбы между условиями у обоих участников ($p > 0,08$, $f = 0,50$, для S1 и $p = 0,37$, $f = 0,36$ для S2; Рис. S4). Анализируя точность выполнения, оба участника показали низкие коэффициенты ранговой корреляции Спирмена (от 0,03 до 0,5) на протяжении сеансов, что свидетельствует об отсутствии влияния обучения или первоначального привыкания на их успеваемость (Рис. S5).

Эти результаты показали более значительное снижение когнитивной нагрузки, когда пациенты выполняли две задачи одновременно (одну двигательную и одну когнитивную) в тот момент, когда в нейророботическом устройстве использовалась более бионическая нейрональная стимуляция.

3 Обсуждение

3.1 Многоуровневый подход к разработке стратегий стимуляции сведет к минимуму ощущения парестезии

В этом исследовании мы спроектировали, разработали и протестировали нейророботизированное устройство, использующее биомиметическую нейростимуляцию, основанную на моделях у людей с ампутацией конечностей. Благодаря многоуровневой структуре стало возможным разработать и протестировать эффективные парадигмы биостимуляции, чтобы вызвать более естественные чувства и лучше понять причины использования биомиметических подходов в области нейропротезирования. Действительно, благодаря реалистичному in-silico моделированию кодирования прикосновения стопы, были определены точные паттерны нейронной стимуляции, которые точно имитируют возбуждение кожных механорецепторов. Одноволоконные (SAI, SAII, FAI, FAII) и смешанные (FULL) шаблоны были реализованы для кодирования механической деформации кожи в соответствии с нашей политикой нейронной стимуляции. Частота стимуляции модулировалась на основе динамики активации волокон, поскольку она влияла на качество формирования искусственного прикосновения для бионических конечностей [49].

3.2 Сравнение нейрональных реакций, индуцированных естественным прикосновением, и электрической стимуляцией нервов

Эксперименты на животных позволили нам сравнить нейрональную динамику как реакцию на естественное прикосновение, биомиметическую и тоническую электрическую стимуляцию. В этой работе мы использовали кошек в качестве животной модели из-за их аналогичной активации периферических сенсорных волокон с человеком во время локомоции [77]. Эксперименты с децеребрированными кошками позволили нам объективно наблюдать за распространением биомиметических парадигм с периферии. Это позволило создать уникальную экспериментальную установку для сравнения особенностей нейрональной реакции на естественное прикосновение и различных парадигм стимуляции на уровне позвоночника без вмешательства в нисходящие сигналы, которые было бы трудно отдифференцировать. Используя метод децеребрации, мы также исключили использование анестезии, так как она может изменить нейрональные сигналы и устранить помехи движениям. В этих, длившихся 12–15 часов, экспериментах на животных нашей главной целью было понять, вызывает ли более сложная стимуляция кумулятивный нейрональный сигнал, более похожий на естественный, чем «классическая» тоническая стимуляция на уровне позвоночника. Для этого мы касались латерально-каудальной

области ноги, связанной с пяткой, которая иннервируется большеберцовым и общим седалищным нервами. Это части тех же общих нервов, идущих к подошве лапы. Таким образом, были активированы афферентные волокна, которые иннервируют подошву стопы, поскольку определенные биомиметические паттерны развиваются на основе их активности. Наша цель состояла в том, чтобы доказать концепцию регистрации «грубого» сигнала, вызванного прикосновением и электростимуляцией, а затем проанализировать его совокупные характеристики на популяционном уровне. Записи у кошек с децеребрацией, полученные с помощью множественных нейрональных интерфейсов вдоль их соматосенсорной оси (соматический нерв, дорсальные ганглии корешков и спинной мозг) показали, что биомиметическая нейростимуляция вызывала пространственно-временные характеристики ответа афферентов, более похожие на те, которые индуцируются естественным образом, чем тоническая стимуляция. Биомиметические паттерны имели значительно меньшую синхронизированную активность в позвоночных цепях по сравнению с тонической стимуляцией, где повышенная активность афферентов может ограничить возможность восприятия осязательных ощущений, восстановленных с помощью электрической стимуляции [78]. Это является наглядным свидетельством влияния динамики биоинспирированной стимуляции на нейронную афферентную активацию, показывая возможность искусственного кодирования естественных сенсорных сообщений в нервной системе. Предыдущие исследования также выдвигали гипотезу о принятии сложных пространственно-временных паттернов, имитирующих естественную периферическую афферентную активность [31,37]. Этот подход также был предложен для модуляции корковой активности с помощью интракортикальной микроstimуляции (ICMS - intracortical microstimulation) для передачи обратной связи от прикосновения [40,79] или траектории движения (чувство проприоцепции) [80]. Также предполагалось, что использование интерфейса ICMS, который имитирует естественные ощущения, будет быстрее и в конечном итоге эффективнее, чем изучение произвольных ассоциаций с неестественными ощущениями или произвольно модулированными ICMS [81]. Наше исследование подтверждает эти гипотезы об использовании биомиметического кодирования в нейропротезах ПНС. Тем не менее, наша экспериментальная установка была сосредоточена на понимании первого уровня обработки информации, поступающей с периферии в спинной мозг. В дальнейшем, исследования, проведенные на обезьянах [82], показали корковые ответы (LFP) на биомиметическую стимуляцию периферических нервов с использованием межфасцикулярных электродов. Показано, что стимуляция постоянной частотой приводит к непрерывной фазовой синхронизации, в то время как биомиметическая стимуляция вызывает гамма-усиление на протяжении всего стимула,

фазовую блокировку только в начале и при высвобождении стимула. Эта реакция коры головного мозга была описана как «Соответствующая реакция в гамма-диапазоне» (ARγ). Что касается сенсорного восстановления в бионике, то многоканальная биомиметическая ICMS обеспечила силовую обратную связь [40] с высоким разрешением и более локализуемые ощущения [83] у пациентов. Мы считаем, что будущая экспериментальная работа должна расширить эти результаты, исследуя нейронные процессы, вызванные электрической стимуляцией в gracilis nucleus (или cuneate nucleus для верхней конечности), таламусе или соматосенсорной коре, особенно у человека.

3.3 Улучшение сенсорной обратной связи и функциональности в нейромодуляционных устройствах с использованием биомиметической стимуляции

Эти стратегии биомиметической нейростимуляции были протестированы на трех людях с трансфеморальной ампутацией, имплантированной в нервы ноги с помощью интранейрональных электродов. Все участники сообщили о более естественных ощущениях при стимуляции биомиметическими кодировками в соответствии со стандартными паттернами нейромодуляции от каждого канала стимуляции на электродах. Нейронная стимуляция постепенно задействует все сенсорные афференты в пучке [84,85] в зависимости как от расстояния от электрода (порог пропорционален квадрату расстояния), так и от диаметра афферентов (порог пропорционален 1/квадратный корень из диаметра волокна) [86]. Таким образом, каждый импульс стимуляции, подаваемый через активный центр, скорее всего, будет включать в себя смесь сенсорных афферентных типов, даже если они сгруппированы [87]. По этой причине сколько и каких тактильных афферентов будет стимулироваться данным паттерном стимуляции через конкретный электрод, априори неизвестно. Это может быть причиной того, что различные типы биомиметического кодирования были признаны участниками более естественными в соответствии с воспринимаемым положением ноги (Рис. S3) и, следовательно, кластерами рекрутированных афферентов. Этот феномен также может выявить типологию описываемых ощущений, в то время как определенные типы афферентов активировались нейростимуляцией [36,88] (колебание, вибрация, прикосновение). Точно так же это может объяснить, почему при более простом кодировании (на пороговом уровне) электрически вызванные ощущения иногда могут быть описаны как естественные [8,10,89].

Наконец, мы реализовали эти алгоритмы в роботизированных протезах в режиме реального времени, сравнивая их функциональные показатели с ранее предложенными технологиями. Биомиметические нейропротезы ног позволили быстрее ходить по лестнице и снизить когнитивную нагрузку в тесте двойного задания у обоих участников. Эти

результаты показали, что биомиметическое кодирование имеет отношение к функциональности устройства и, таким образом, усиливает положительный эффект этого вмешательства. В частности, значительное повышение подвижности при выполнении такой сложной повседневной задачи, как подъем по лестнице, очень актуально для людей с ампутацией нижних конечностей. Это улучшение, вероятно, связано с сообщениями о более высокой уверенности в протезе ноги с биомиметической сенсорной обратной связью [47]. Человек с ампутированной конечностью способен более эффективно ощущать положение своего протеза по отношению к земле, что приводит к более быстрому переходу от удара пяткой во время ходьбы [90]. Уверенность и подвижность ранее были предложены в качестве наиболее четких и простых показателей влияния сенсорной обратной связи на походку [47]. Протезы с микропроцессорным управлением увеличивают самостоятельно выбранную участниками скорость ходьбы примерно на 8% по сравнению с механически пассивными устройствами [91]. В этом исследовании мы показали, что скорость участников лестничных задач при использовании коленного сустава, управляемого микропроцессором (RHEO KNEE XC), была еще больше улучшена за счет биомиметической сенсорной обратной связи (>13% в S1 и >22% в S2). Что касается результатов уверенности в себе, многие исследования сообщали о снижении уверенности в себе при ходьбе у людей с ампутированными нижними конечностями и ее тесной связи с подвижностью и способностью ходить [92,93,94]. Более того, предыдущие исследования с участием пациентов с ампутированными верхними конечностями показали, что сенсорная обратная связь повышает уверенность участников (т.е. самоэффективность) и напрямую коррелировала с точностью протеза при выполнении функциональных задач [95,96].

CDT представлял собой реальный сценарий нескольких одновременных задач. Это позволило нам получить объективную оценку лучшей когнитивной интеграции протеза с биомиметической нейростимуляцией [22,48], при этом оба пациента с ампутированными конечностями улучшили свою когнитивную точность. В дополнение к нашим результатам, предыдущие исследования показали предварительные улучшения в ловкости рук и распознавании объектов у пациентов с ампутированными верхними конечностями с помощью роботизированных протезов рук [38,39]. Тем не менее, существуют заметные различия, которые следует учитывать между протезами верхних и нижних конечностей при разработке синтетической сенсорной обратной связи. Во-первых, седалищный нерв, который иннервирует стопу и голень, более чем в два раза больше, чем срединный и локтевой нервы, которые иннервируют пальцы и ладони, и его также трудно достичь через большие мышцы ног во время операции. Плотность и расположение рецепторов различаются между верхними и нижними конечностями (учитывается в TouchSim и

FootSim). Люди с ампутированными верхними конечностями могут использовать свои неповрежденные руки практически для всех видов деятельности, в то время как люди с ампутированными ногами не могут передвигаться без протеза. Неверный шаг может привести к опасному падению и травматизации. Наконец, более высокие уровни ампутации требуют большей сложности в восстановлении сенсорной обратной связи, поскольку необходимо передавать большие объемы информации. Эти характеристики обратной связи должны быть учтены при различных типах ампутаций.

3.4 Ограничения исследования

Во время экспериментов на животных, в идеале, мы должны применять механические стимулы, воспроизводящие естественное прикосновение к кошачьей лапе, контролируемым образом, используя роботизированную установку, которая прикладывает постоянное, заранее определенное давление, чтобы вызвать устойчивый нейрональный ответ вдоль соматосенсорной оси. Однако эта процедура является дорогостоящей, сложной и, прежде всего, очень трудоемкой, поэтому в наших экспериментах по проверке концепции она была невыполнима. В будущих тестах следует изучить сравнение ПНС с различными типами естественной тактильной стимуляции.

Модель FootSim, используемая для создания биомиметических парадигм, не учитывала поперечные силы или боковое скольжение, а имитировала их как квазинепрерывное напряжение. Такое упрощение влечет за собой снижение точности прогнозирования ответов афферентов SA2-типа, которые передают информацию о растяжении кожи.

Несмотря на то, что мы протестировали биомиметические паттерны в системе нейропротезов с замкнутым контуром, эти парадигмы были основаны на выходных данных модели для работы в автономном режиме, в то время как мы считаем, что стратегии стимуляции должны определяться в режиме реального времени на основе выходных данных модели. Необходимы инженерные усилия, чтобы сделать эту нейропротезную систему полностью функциональной в режиме реального времени, а в будущем и полностью имплантируемой. Чтобы завершить оценку этого биомиметического нейропротеза, будущие клинические испытания должны включать количественный анализ изменений модели походки [47,97], усталость и нейрофизиологические показатели, которые являются критически важными аспектами для долгосрочного использования этих устройств. Более того, в то время как оценка естественности с использованием визуально-аналоговой шкалы является информативной, ее расширение до более полного опросника

или шкалы может охватить более широкий спектр ощущений и восприятий, связанных с естественностью.

Наконец для того, чтобы проверить обобщаемость и клиническую значимость предложенного подхода, следующая фаза клинического исследования (фазы II и III) выиграет от прямого сравнения с соответствующей контрольной группой (рандомизированное двойное слепое клиническое исследование).

3.5 Использование структуры в будущих устройствах биомиметической нейростимуляции

Представленный нейромодуляторный подход, основанный на биомиметическом кодировании, также может быть очень актуален для других нейропротезов в ЦНС (например, глубокая стимуляция мозга [98], эпидуральная стимуляция [13], ICMS [5,18]) и для применения в биоэлектронной медицине (например, стимуляция блуждающего нерва [99], стимуляция вегетативной нервной системы [100]) с той же необходимостью вызвать естественный паттерн активации в определенном нервном районе с помощью искусственной электростимуляции. Действительно, биомиметический подход доказал свою эффективность для улучшения функциональных характеристик в других типах нейронных протезов (например, улучшение разборчивости речи для кохлеарных имплантатов [101]; восстановление стабильности при вестибулярных протезах [102]). Мы считаем, что подход, основанный на моделировании желаемой неврологической функции *in silico* с последующей валидацией на животных по воспринимаемому качеству ощущений и производительности при выполнении повседневных задач, станет стандартной основой для разработки новых нейропротезов.

В будущих биомиметических нейро-интерфейсах, которые восстанавливают полностью естественные ощущения, пространственное структурирование может быть достигнуто путем стимуляции различных электродов пространственно смещенными проекционными полями, в то время как временные паттерны могут быть вызваны временной модуляцией параметров стимуляции, доставляемых через каждый электрод, как это было предложено в нашем исследовании. Тем не менее, степень, в которой искусственно вызванная нейронная активность должна имитировать активность естественных афферентных входов, чтобы быть полностью использованной, остается критическим вопросом, особенно в случаях более сложных тактильных особенностей [25,103] (текстуры, жесткость объекта, форма и т.д.) и проприоцепцию.

В данной работе мы оценили несколько типов биомиметических паттернов, которые были разработаны с использованием различных характеристик ответа отдельных афферентных типов. Когда мы стимулировали весь нерв во время экспериментов на животных, биомиметический паттерн, основанный на агрегированном афферентном ответе (FULL biomimetic), оказался наиболее похожим на свой естественный аналог. Примечательно, что, когда эти парадигмы доставлялись с помощью интраневральных электродов у людей, меньшие кластеры смешанных афферентов избирательно активировались различными каналами. Интересно, что естественность ощущений, при той же стратегии кодирования, менялась в зависимости от конкретных областей подошвы стопы. Это говорит о том, что наложение совокупной динамики на индуцирование естественных ощущений не является оптимальным для каждого задействованного кластера волокон, а вместо этого зависит от распределения активированных афферентов (механорецепторов) и их специфической роли в обработке сенсорных ощущений. Мы считаем, что стратегии нейростимуляции должны основываться на вычислительном моделировании, которое имитирует реалистичные динамические условия. Кроме того, мы предусматриваем использование методов машинного обучения для калибровки системы [104] и прогнозирование наиболее подходящей схемы стимуляции, а также проектирование более совершенных электродов [105]. В дополнение к представленному здесь преимуществу, мы предполагаем, что эта восстановленная естественная обратная связь окажет положительное влияние на уровень внедрения этого искусственного устройства. Более детальная оценка этого аспекта должна быть выполнена с помощью измерений в варианте осуществления [48,106].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами была разработана и протестирована система биомиметической нейростимуляции, способная транслировать близкую к натуральной информацию в неповрежденные отделы нервной системы. Биомиметическая стимуляция приводила к активности нейронной сети, приближающейся по своей пространственно-временной динамике к естественной нормальной. Разработанная нейротехнологическая парадигма была реализована в бионическом устройстве и протестирована на пациентах, обеспечив у них большую мобильность и лучшую координацию по сравнению с традиционными подходами. Собранные нами данные не только усиливают влияние биомиметического кодирования сигналов с научной точки зрения, но и открывают огромные перспективы в ознаменовании появления нового поколения нейропротезных устройств. Новые

технологии, вдохновленные природой, могут в полной мере имитировать естественные нейронные функции, утраченные после болезни или травмы. Возможность естественного общения с мозгом откроет новые двери для науки во многих областях.

Список опубликованных работ по 6 этапу проекта

По результатам работы в 2024 г. лабораторией опубликовано 17 научных работ, из них 7 статей в рецензируемых изданиях WOS/Scopus общим IF=38,183, из которых 5 статей в журналах Q1-Q2; 7 РИНЦ; 3 Preprint

Статьи в рецензируемых журналах:

1. Valle, G., Katic Secerovic, N., Eggemann, D., Gorskii, O., Pavlova, N., Petrini, F. M., Cvancara, P., Stieglitz, T., Musienko, P., Bumbasirevic, M. & Raspopovic, S./ Biomimetic computer-to-brain communication enhancing naturalistic touch sensations via peripheral nerve stimulation. 20.02.2024, Nature Communications. 15, 1, 1151 <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45190-6> (Scopus, WoS, РИНЦ, **IF=16,6**). Quartile: Q1

2. Secerovic N, Balaguer JM, Gorskii O, Pavlova N, Liang L, Ho J, Grigsby E, Gerszten P, Karal-ogly D, Bulgin D, Orlov S, Pirondini E, Musienko P, Raspopovic S, Capogrosso M. Neural population dynamics reveals disruption of spinal sensorimotor computations during electrical stimulation of sensory afferents. Cell Reports 43, 113695, 2024 <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.113695> (Scopus, WoS, РИНЦ, **IF=8,8**). Quartile: Q1

3. V. A. Lyakhovetskii, P. Yu. Shkorbatova, O. V. Gorsky [et al.]/ Stimulation of the Spinal Cord of Decerebrated Rat with Double Pulses // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. – 2024. – Vol. 60, No. 2. – P. 491-503. – <http://dx.doi.org/10.1134/S0022093024020054> (WoS, РИНЦ, **IF=0,6**). Quartile: Q4

4. Sysoev Yu I., Okovityi S.V. Prospects of Electrocorticography in Neuropharmacological Studies` in Small Laboratory Animals Brain Sci. 2024, 14(8), 772; <https://doi.org/10.3390/brainsci14080772> (Scopus, WoS, РИНЦ, **IF=3,0**). Quartile: Q2

5. A.Popov, V. Lyakhovetskii, O.Gorskii, D.Kalinina, N.Pavlova, P.Musienko. Effect of Hindlimb Unloading on Hamstring Muscle Activity in Rats. Brain Behav Evol 2024;99(2):86-95. <https://doi.org/10.1159/000537776> (Scopus, WoS, РИНЦ, **IF=1,919**). Quartile: Q2

6. Gerasimova E, Enikeev D, Yakovlev A, Zakharov A, Sitdikova G. Chronic Hyperhomocysteinemia Impairs CSD Propagation and Induces Cortical Damage in a Rat Model of Migraine with Aura. Biomolecules. 2024; 14(11):1379. <https://doi.org/10.3390/biom14111379> (Scopus, WoS, РИНЦ, **IF=6,064**). Quartile: Q1

7. Role of the Serotonergic System in Functional Recovery after Spinal Cord Injury. S. P. Konovalova, Yu. I. Sysoev, A. Vetlugina, K. A. Arsentiev, and P. E. Musienko. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 2024, Vol. 60, No. 5, pp. 1943–1959. © Pleiades Publishing, Ltd., 2024. <http://dx.doi.org/10.1134/S0022093024050235> (WoS, РИНЦ, **IF=0,6**).

8. Cell therapy and biomaterials: modern approaches in the treatment of spinal cord injury K. A. Arsentiev, V.S.Shtol, S. P. Konovalova, A.D.Tsareva, D.A.Ivanov, P. E. Musienko *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 2024, Vol. 60, No. 6 (WoS, РИНЦ, **IF=0,6**). In press

9. Оценка рефлекторных ответов мышц передних и задних конечностей крыс с нокаутом дофаминового транспортера (ДАТ-КО) при эпидуральной стимуляции спинного мозга / А. Э. Махортых, Ю. И. Сысоев, Д. С. Калинина, О. В. Горский // *Фундаментальная наука и клиническая медицина - человек и его здоровье : Материалы XXVII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей, Санкт-Петербург, 20 апреля 2024 года. – Санкт-Петербург: ООО Издательский дом "Сциентиа", 2024. – С. 779-780. – EDN ISQMHO.*

10. Мусиенко, П. Е., Ляховецкий, В. А., Шкорбатова, П. Ю., Горский, О. В., Павлова Н.В., Калинина, Д. С., Баженова, Е. Ю. & Меркульева, Н. С. Эпидуральная стимуляция спинного мозга децеребрированной ДАТ-КО крысы двойными импульсами 2024, *ЖУРНАЛ ЭВОЛЮЦИОННОЙ БИОХИМИИ И ФИЗИОЛОГИИ*, 2024, том 60, № 2, с. 208–220 <https://doi.org/10.31857/S0044452924020051>

11. D. Kalinina, O. Gorsky, V. Lyakhovetskii, N. Pavlova, P. Musienko Dopamine in the Control of Postural Function in <https://ssrn.com/abstract=4960202>Rats SSRN Preprint <https://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4960202>

12. Yuri Sysoev, D. Shits, M. Puchik, N. Kurmazov, E. Fedorova, I. Titovich, S. Okovityi. Pharmacology-Based Classification of Psychotropic Activity of Novel Chromone-Containing Allylmorpholines in Rats (October 09, 2024). Available at SSRN Preprint <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4994160>

13. Puchik, M., Shits, D., Sysoev, Y., Titovich, I., Okovityi, S. Acute behavioral effects of a new chromone-containing allylmorpholine derivative in balb/c mice (October 09, 2024). Available at SSRN Preprint <https://ssrn.com/abstract=5002549>

Тезисы:

1. А. Э. Махортых, Ю. И. Сысоев, Д. С. Калинина, О. В. Горский/ Оценка рефлекторных ответов мышц передних и задних конечностей крыс с нокаутом

дофаминового транспортера (DAT-KO) при эпидуральной стимуляции спинного мозга // *Фундаментальная наука и клиническая медицина - человек и его здоровье : Материалы XXVII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей, Санкт-Петербург, 20 апреля 2024 года. : ООО Издательский дом "Сциентиа", 2024. – С. 779-780. – EDN ISQMHO*

2. Мусиенко, П. Е., Ляховецкий, В. А., Шкорбатова, П. Ю., Горский, О. В., Калинина, Д. С., Баженова, Е. Ю. & Меркульева, Н. С. /Эпидуральная стимуляция спинного мозга децеребрированной DAT-KO крысы двойными импульсами // *Материалы XI Всероссийской с международным участием школы-конференции по физиологии мышц и мышечной деятельности, посвященной 70-летию открытия механизма мышечного сокращения. 2024 Москва: Научная книга, стр. 55 1 стр.*

3. Мусиенко П.Е., Шапкова Е.Ю./ Технологии тренировки ходьбы в экзоскелете и электростимуляции спинного мозга и мышц для пациентов с нарушением или утратой локомоторной функции // *XI Всероссийская с международным участием школа-конференция по физиологии мышц и мышечной деятельности, посвященная 70-летию открытия механизма мышечного сокращения, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 22/05/24 - 25/05/24 стр. 60.*

4. Мусиенко П.Е., Шапкова Е.Ю. / Концепция и технологии управляемой нейропластичности для восстановления движений при параличах// *Материалы XI Всероссийской с международным участием школы-конференции по физиологии мышц и мышечной деятельности, посвященной 70-летию открытия механизма мышечного сокращения (Москва, 22–25 апреля 2024 г.). Институт медико-биологических проблем РАН, стр. 92 1 стр.*

5. Мусиенко П.Е., Махортых А.Э., Сысоев Ю.И., Калинина Д.С., Горский О.В. / Оценка рефлекторных ответов мышц передних и задних конечностей крыс с нокаутом дофаминового транспортера (DAT-KO) при эпидуральной стимуляции спинного мозга //, *XXVII Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 20/04/24 стр. 779-780.*

6. Федорова Е.В., Шиц Д.Д., Пучик М.М. Сысоев Ю.И. / Фармакоэнцефалографическое исследование аминоксифира вальпроевой кислоты // *XIV ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ МОЛОДЕЖНОГО НАУЧНОГО ОБЩЕСТВА «МОЛОДАЯ ФАРМАЦИЯ – ПОТЕНЦИАЛ БУДУЩЕГО» Санкт-Петербург, 28 марта – 02 апреля 2024 года 2024 стр. 487-490, 4 стр.*

7. Шапкова Е.Ю., Емельяников Д.В., Иванова Г.Е., Мушкин А.Ю. / Минеральная плотность костной ткани у пациентов с тяжелой спинальной травмой // *IX Российский*

конгресс по остеопорозу, остеоартриту и другим метаболическим заболеваниям скелета с международным участием. 5-7 сентября 2024 года, Санкт-Петербург. Сборник тезисов. Остеопороз и остеопатии. 2024;27(1S):S4-S118.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Raspopovic, S., Valle, G. & Petrini, F.M. Sensory feedback for limb prostheses in amputees. *Nat. Mater.* <https://doi.org/10.1038/s41563-021-00966-9> (2021).
2. Edwards, C.A., Kouzani, A., Lee, K.H. & Ross, E.K. Neurostimulation devices for the treatment of neurologic disorders. *Mayo Clin. Proc.* 92, 1427–1444 (2017).
3. Raspopovic, S. Advancing limb neural prostheses. *Science* 370, 290–291 (2020).
4. Bensmaia, S. J., Tyler, D. J. & Micera, S. Restoration of sensory information via bionic hands. *Nat. Biomed. Eng.* <https://doi.org/10.1038/s41551-020-00630-8> (2020).
5. Flesher, S. N. et al. A brain-computer interface that evokes tactile sensations improves robotic arm control. *Science* 372, 831–836 (2021).
6. Wang, Y., Yang, X., Zhang, X., Wang, Y. & Pei, W. Implantable intracortical microelectrodes: reviewing the present with a focus on the future. *Microsyst. Nanoeng.* 9, 1–17 (2023).
7. Petrini, F. M. et al. Sensory feedback restoration in leg amputees improves walking speed, metabolic cost and phantom pain. *Nat. Med.* 25, 1356–1363 (2019).
8. Petrini, F. M. et al. Six-month assessment of a hand prosthesis with intraneural tactile feedback. *Ann. Neurol.* 85, 137–154 (2019).
9. Ortiz-Catalan, M., Mastinu, E., Sassu, P., Aszmann, O. & Brånemark, R. Self-contained neuromusculoskeletal arm prostheses. *N. Engl. J. Med.* 382, 1732–1738 (2020).
10. Tan, D. W. et al. A neural interface provides long-term stable natural touch perception. *Sci. Transl. Med.* 6, 257ra138 (2014).
11. Nanivadekar, A. C. et al. Closed-loop stimulation of lateral cervical spinal cord in upper-limb amputees to enable sensory discrimination: a case study. *Sci. Rep.* 12, 17002 (2022).
12. Chandrasekaran, S. et al. Sensory restoration by epidural stimulation of the lateral spinal cord in upper-limb amputees. *eLife* 9, e54349 (2020).
13. Wagner, F. B. et al. Targeted neurotechnology restores walking in humans with spinal cord injury. *Nature* 563, 65–71 (2018).
14. Angeli, C. A. et al. Recovery of over-ground walking after chronic motor complete spinal cord injury. *N. Engl. J. Med.* 379, 1244–1250 (2018).
15. Gill, M. L. et al. Neuromodulation of lumbosacral spinal networks enables independent stepping after complete paraplegia. *Nat. Med.* 24, 1677–1682 (2018).
16. Tabot, G. A. et al. Restoring the sense of touch with a prosthetic hand through a brain interface. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, 18279–18284 (2013).
17. Salas, M. A. et al. Proprioceptive and cutaneous sensations in humans elicited by intracortical microstimulation. *eLife Sci.* 7, e32904 (2018).

18. Flesher, S. N. et al. Intracortical microstimulation of human somatosensory cortex. *Sci. Transl. Med.* 8, 361ra141–361ra141 (2016).
19. Clemente, F. et al. Intranural sensory feedback restores grip force control and motor coordination while using a prosthetic hand. *J. Neural Eng.* 16,026034(2019).
20. Schiefer, M., Tan, D., Sidek, S.M. & Tyler, D. J. Sensory feedback by peripheral nerve stimulation improves task performance in individuals with upper limb loss using a myoelectric prosthesis. *J. Neural Eng.* 13, 016001 (2016).
21. Mastinu, E. et al. Neural feedback strategies to improve grasping coordination in neuromusculoskeletal prostheses. *Sci. Rep.* 10, 11793 (2020).
22. Valle, G. et al. Hand control with invasive feedback is not impaired by increased cognitive load. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8,287 (2020).
23. Johansson, R. S. & Flanagan, J. R. Coding and use of tactile signals from the fingertips in object manipulation tasks. *Nat. Rev. Neurosci.* 10,345–359 (2009).
24. Raspopovic, S. Neurorobotics for neurorehabilitation. *Science* 373,634–635 (2021).
25. Valle, G. et al. Sensitivity to temporal parameters of intraneural tactile sensory feedback. *J. Neuroeng. Rehabil.* 17, 110 (2020).
26. Valle, G. et al. Comparison of linear frequency and amplitude modulation for intraneural sensory feedback in bidirectional hand prostheses. *Sci. Rep.* 8, 16666 (2018).
27. Cimolato, A., Ciotti, F., Kljajić, J., Valle, G. & Raspopovic, S. Symbiotic electroneural and musculoskeletal framework to encode proprioception via neurostimulation: ProprioStim. *iScience* 26, 106248 (2023).
28. Raspopovic, S. et al. Restoring natural sensory feedback in real time bidirectional hand prostheses. *Sci. Transl. Med.* 6, 222ra19–222ra19 (2014).
29. Petrini, F. M. et al. Enhancing functional abilities and cognitive integration of the lower limb prosthesis. *Sci. Transl. Med.* 11, eaav8939 (2019).
30. Ortiz-Catalan, M., Hakansson, B. & Branemark, R. An osseointegrated human-machine gateway for long-term sensory feedback and motor control of artificial limbs. *Sci. Transl. Med.* 6, 257re6–257re6 (2014).
31. Saal, H.P. & Bensmaia, S.J. Biomimetic approaches to bionic touch through a peripheral nerve interface. *Neuropsychologia* 79, 344–353 (2015).
32. Prochazka, A. Proprioceptive feedback and movement regulation. in *Comprehensive Physiology* 89–127 (American Cancer Society, 2011). <https://doi.org/10.1002/cphy.cp120103>.
33. Freeman, A.W. & Johnson, K.O. Cutaneous mechanoreceptors in macaque monkey: temporal discharge patterns evoked by vibration, and a receptor model. *J. Physiol.* 323,21–41 (1982).

34. Abbott, L. F. & Regehr, W. G. Synaptic computation. *Nature* 431, 796–803 (2004).
35. Formento, E., D’Anna, E., Gribo, S., Lacour, S. P. & Micera, S. A biomimetic electrical stimulation strategy to induce asynchronous stochastic neural activity. *J. Neural Eng.* 17, 046019 (2020).
36. Torebjörk, H.E.&Ochoa,J.L.Specific sensations evoked by activity in single identified sensory units in man. *Acta Physiol. Scand.* 110,445–447 (1980).
37. Okorokova, E., He, Q. & Bensmaia, S. J. Biomimetic encoding model for restoring touch in bionic hands through a nerve inter face. *J. Neural Eng.* <https://doi.org/10.1088/1741-2552/aae398> (2018).
38. George, J. A. et al. Biomimetic sensory feedback through peripheral nerve stimulation improves dexterous use of a bionic hand. *Sci. Robot.* 4, eaax2352 (2019).
39. Valle, G. et al. Biomimetic intraneural sensory feedback enhances sensation naturalness, tactile sensitivity, and manual dexterity in a bidirectional prosthesis. *Neuron* 100,37–45. e7 (2018).
40. Greenspon, C. M. et al. Biomimetic multi-channel microstimulation of somatosensory cortex conveys high resolution force feedback for bionic hands. *bioRxiv* <https://doi.org/10.1101/2023.02.18.528972> (2023).
41. Callier, T., Suresh, A.K.&Bensmaia,S.J. Neural coding of contact events in somatosensory cortex. *Cereb. Cortex* <https://doi.org/10.1093/cercor/bhy337> (2019).
42. Saal, H.P.&Bensmaia,S.J. Touch is a team effort: interplay of submodalities in cutaneous sensibility. *Trends Neurosci.* 37, 689–697 (2014).
43. Carter, A.W., Chen, S.C., Lovell, N.H., Vickery, R.M.&Morley,J. W. Convergence across tactile afferent types in primary and secondary somatosensory cortices. *PLoS ONE* 9, e107617 (2014).
44. Pei, Y.-C., Denchev, P.V., Hsiao, S.S., Craig, J.C.&Bensmaia, S.J. Convergence of submodality-specific input onto neurons in primary somatosensory cortex. *J. Neurophysiol.* 102, 1843–1853 (2009).
45. Suresh, A.K. et al. Sensory computations in the cuneate nucleus of macaques. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 118, e2115772118 (2021).
46. Katic, N. et al. Modeling foot sole cutaneous afferents: FootSim. *iScience* 26, 105874 (2023).
47. Valle, G. et al. Mechanisms of neuro-robotic prosthesis operation in leg amputees. *Sci. Adv.* 7, eabd8354 (2021).
48. Preatoni, G., Valle, G., Petrini, F.M.&Raspovic, S. Lightening the perceived weight of a prosthesis with cognitively integrated neural sensory feedback. *Curr. Biol.* 31,1–7 (2021).

49. Graczyk, E.L., Christie, B.P., He, Q., Tyler, D.J. & Bensmaia, S.J. Frequency shapes the quality of tactile percepts evoked through electrical stimulation of the nerves. *J. Neurosci.* 42, 2052–2064 (2022).
50. Hughes, C. L. et al. Perception of microstimulation frequency in human somatosensory cortex. *eLife* 10, e65128(2021).
51. Graczyk, E. L. et al. The neural basis of perceived intensity in natural and artificial touch. *Sci. Transl. Med.* 8, 362ra142–362ra142 (2016).
52. Merkul'yeva, N. et al. Distribution of spinal neuronal networks controlling forward and backward locomotion. *J. Neurosci.* 38, 4695–4707 (2018).
53. Musienko, P.E. et al. Comparison of operation of spinal locomotor networks activated by supraspinal commands and by epidural stimulation of the spinal cord in cats. *J. Physiol.* 598, 3459–3483 (2020).
54. Quian Quiroga, R. & Panzeri, S. Extracting information from neuronal populations: information theory and decoding approaches. *Nat. Rev. Neurosci.* 10, 173–185 (2009).
55. Quiroga, R. Q., Nadasdy, Z. & Ben-Shaul, Y. Unsupervised spike detection and sorting with wavelets and superparamagnetic clustering. *Neural Comput.* 16, 1661–1687 (2004).
56. Boretius, T. et al. A transverse intrafascicular multichannel electrode (TIME) to interface with the peripheral nerve. *Biosens. Bioelectron.* 26, 62–69 (2010).
57. Petrusic, I. et al. Plastic changes in the brain after a neuroprosthetic leg use. *Clin. Neurophysiol.* <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2022.04.001> (2022).
58. Čvančara, P. et al. Stability of flexible thin-film metallization stimulation electrodes: analysis of explants after first-in-human study and improvement of in vivo performance. *J. Neural Eng.* 17, 046006 (2020).
59. Čvančara, P. et al. On the reliability of chronically implanted thin film electrodes in human arm nerves for neuroprosthetic applications. *bioRxiv* <https://doi.org/10.1101/653964> (2019)
60. Guiho, T. et al. Advanced 56 channels stimulation system to drive intrafascicular electrodes. in *Converging Clinical and Engineering Research on Neurorehabilitation II. Proceedings of the 3rd International Conference on NeuroRehabilitation (ICNR2016)*, October 18-21, 2016, Segovia, Spain (ed. Ibáñez J, G. V. J) 2 743–747 (2016).
61. D'Anna, E. et al. A closed-loop hand prosthesis with simultaneous intraneural tactile and position feedback. *Sci. Robot.* 4, eaau8892 (2019).
62. Valle, G. et al. A psychometric platform to collect somatosensory sensations for neuroprosthetic use. *Front. Med. Technol.* 3, 8(2021).
63. Ortiz-Catalan, M., Wessberg, J., Mastinu, E., Naber, A. & Bråne mark, R. Patterned

stimulation of peripheral nerves produces natural sensations with regards to location but not quality. *IEEE Trans. Med. Robot. Bionics* 1,199–203 (2019).

64. Valle, G. et al. Multifaceted understanding of human nerve implants to design optimized electrodes for bioelectronics. *Biomaterials* 291, 121874 (2022)

65. Abaira, V. E. & Ginty, D. D. The sensory neurons of touch. *Neuron* 79,618–639 (2013).

66. Whelan, P. J. Control of locomotion in the decerebrate cat. *Prog. Neurobiol.* 49,481–515 (1996).

67. Sprague, J.M.&Chambers. Control of posture by reticular formation and cerebellum in the intact, anesthetized and unanesthetized and in the decerebrated cat. *Am. J. Physiol.* 176, 52–64 (1953).

68. Greenspon,C.M.etal.Lamina-specific population encoding of cutaneous signals in the spinal dorsal horn using multi-electrode arrays. *J. Physiol.* 597,377–397 (2019).

69. Kashkoush, A. I., Gaunt, R. A., Fisher, L. E., Bruns, T. M. & Weber, D. J. Recording single- and multi-unit neuronal action potentials from the surface of the dorsal root ganglion. *Sci. Rep.* 9, 2786 (2019).

70. Tan, D. W. et al. A neural interface provides long-term stable natural touch perception. *Sci. Transl. Med.* 6, 257ra138–257ra138 (2014).

71. Destexhe, A. & Goldberg, J. A. LFP analysis: overview. *Encycl. Comput. Neurosci.* 1,52–55 (2015).

72. Maling, N. & McIntyre, C. Local field potential analysis for closed loop neuromodulation. *Closed Loop Neurosci.* 1,67–80 (2016).

73. Lenz, F. A. et al. Thermal and pain sensations evoked by microstimulation in the area of human ventrocaudal nucleus. *J. Neurophysiol.* 70,200–212 (1993).

74. Strzalkowski, N. D. J., Peters, R. M., Inglis, J. T. & Bent, L. R. Cutaneous afferent innervation of the human foot sole: what can we learn from single-unit recordings? *J. Neurophysiol.* 120, 1233–1246 (2018).

75. Crea, S., Edin, B. B., Knaepen, K., Meeusen, R. & Vitiello, N. Time discrete vibrotactile feedback contributes to improved gait symmetry in patients with lower limb amputations: case series. *Phys. Ther.* 97,198–207 (2017).

76. Clemente,F., D'Alonzo, M., Controzzi, M., Edin, B. B. & Cipriani, C. Non-invasive, temporally discrete feedback of object contact and release improves grasp control of closed-loop myoelectric transradial prostheses. *IEEE Trans. Neural Syst. Rehabil. Eng.* 24, 1314–1322 (2016).

77. Pearcey, G. E. P. & Zehr, E. P. We are upright-walking cats: human limbs as sensory antennae during locomotion. *Physiology* 34, 354–364 (2019).
78. Miller, G. A. The magical number seven, plus or minus two: Some limits on our capacity for processing information. *Psychol. Rev.* 63, 81–97 (1956)
79. Hughes, C. & Kozai, T. Dynamic amplitude modulation of microstimulation evokes biomimetic onset and offset transients and reduces depression of evoked calcium responses in sensory cortices. *Brain Stimul.* 16, 939–965 (2023).
80. Tomlinson, T. & Miller, L. E. Toward a proprioceptive neural interface that mimics natural cortical activity. *Adv. Exp. Med. Biol.* 957, 367–388 (2016).
81. Bensmaia, S. J. & Miller, L. E. Restoring sensorimotor function through intracortical interfaces: progress and looming challenges. *Nat. Rev. Neurosci.* 15, 313–325 (2014).
82. Tanner, J., Keefer, E., Cheng, J. & Helms Tillery, S. Dynamic peripheral nerve stimulation can produce cortical activation similar to punctate mechanical stimuli. *Front. Hum. Neurosci.* 17, 1083307 (2023).
83. Greenspon, C. M. et al. Tessellation of artificial touch via microstimulation of human somatosensory cortex. *bioRxiv* <https://doi.org/10.1101/2023.06.23.545425> (2023).
84. Zelechowski, M., Valle, G. & Raspopovic, S. A computational model to design neural interfaces for lower-limb sensory neuro prostheses. *J. Neuroeng. Rehabil.* 17, 24 (2020).
85. Raspopovic, S., Petrini, F. M., Zelechowski, M. & Valle, G. Framework for the development of neuroprostheses: from basic understanding by sciatic and median nerves models to bionic legs and hands. *Proc. IEEE* 105, 34–49 (2017).
86. Fang, Z.-P. & Mortimer, J. T. Alternate excitation of large and small axons with different stimulation waveforms: an application to muscle activation. *Med. Biol. Eng. Comput.* 29, 543–547 (1991).
87. Jabaley, M. E., Wallace, W. H. & Heckler, F. R. Internal topography of major nerves of the forearm and hand: a current view. *J. Hand Surg.* 5, 1–18 (1980).
88. Ochoa, J. & Torebjörk, E. Sensations evoked by intraneural microstimulation of single mechanoreceptor units innervating the human hand. *J. Physiol.* 342, 633–654 (1983).
89. Wendelken, S. et al. Restoration of motor control and proprioceptive and cutaneous sensation in humans with prior upper-limb amputation via multiple Utah Slanted Electrode Arrays (USEAs) implanted in residual peripheral arm nerves. *J. Neuroeng. Rehabil.* 14, 1–17 (2017).
90. Raja, B., Neptune, R. R. & Kautz, S. A. Quantifiable patterns of limb loading and unloading during hemiparetic gait: relation to kinetic and kinematic parameters. *J. Rehabil. Res. Dev.* 49, 1293–1304 (2012).

91. Orendurff, M. S. et al. Gait efficiency using the C-Leg. *J. Rehabil. Res. Dev.* 43,239–246 (2006).
92. Miller, W. C., Speechley, M. & Deathe, B. The prevalence and risk factors of falling and fear of falling among lower extremity amputees. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 82,1031–1037 (2001).
93. Sions, J. M., Manal, T. J., Horne, J. R., Sarlo, F. B. & Pohlig, R. T. Balance-confidence is associated with community participation, perceived physical mobility, and performance-based function among individuals with a unilateral amputation. *Physiother. Theory Pract.* 36,607–614 (2020).
94. Miller, W. C. & Deathe, A. B. The influence of balance confidence on social activity after discharge from prosthetic rehabilitation for first lower limb amputation. *Prosthet. Orthot. Int.* 35, 379–385 (2011).
95. Schiefer, M.A., Graczyk, E.L., Sidik, S.M., Tan, D.W. & Tyler, D.J. Artificial tactile and proprioceptive feedback improves performance and confidence on object identification tasks. *PLoS ONE* 13, e0207659(2018).
96. Graczyk, E.L., Gill, A., Tyler, D.J. & Resnik, L.J. The benefits of sensation on the experience of a hand: A qualitative case series. *PLoS ONE* 14, e0211469 (2019).
97. DeMarchis, C. et al. Characterizing the gait of people with different types of amputation and prosthetic components through multimodal measurements: a methodological perspective. *Front. Rehabil. Sci.* 3, 804746 (2022).
98. de Hemptinne, C. et al. Therapeutic deep brain stimulation reduces cortical phase-amplitude coupling in Parkinson's disease. *Nat. Neurosci.* 18,779–786 (2015).
99. Marsal, S. et al. Non-invasive vagus nerve stimulation for rheumatoid arthritis: a proof-of-concept study. *Lancet Rheumatol.* 3, e262–e269 (2021).
100. Donegà, M. et al. Human-relevant near-organ neuromodulation of the immune system via the splenic nerve. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 118, e2025428118 (2021).
101. Fumero, M.J. et al. A state-of-the-art implementation of a binaural cochlear-implant sound coding strategy inspired by the medial olivocochlear reflex. *Hear. Res.* 409, 108320 (2021).
102. Wiboonsaksakul, K. P., Roberts, D. C., Santana, C. C. D. & Cullen, K. E. A prosthesis utilizing natural vestibular encoding strategies improves sensorimotor performance in monkeys. *PLOS Biol.* 20, e3001798 (2022).
103. Mazzoni, A. et al. Morphological neural computation restores discrimination of naturalistic textures in trans-radial amputees. *Sci. Rep.* 10,1–14 (2020).
104. Aiello, G., Valle, G. & Raspopovic, S. Recalibration of neuromodulation parameters in neural implants with adaptive Bayesian Optimization. *J. Neural Eng.*

<https://doi.org/10.1088/1741-2552/acc975> (2023).

105. Ciotti, F., Cimolato, A., Valle, G. & Raspopovic, S. Design of an adaptable intrafascicular electrode (AIR) for selective nerve stimulation by model-based optimization. *PLOS Comput. Biol.* 19, e1011184 (2023).

106. Segil, J. L. & Graczyk, E. L. Measuring embodiment: a review of methods for prosthetic devices. *Front. Neurobot.* 16, 902162 (2022).

ПРИЛОЖЕНИЕ

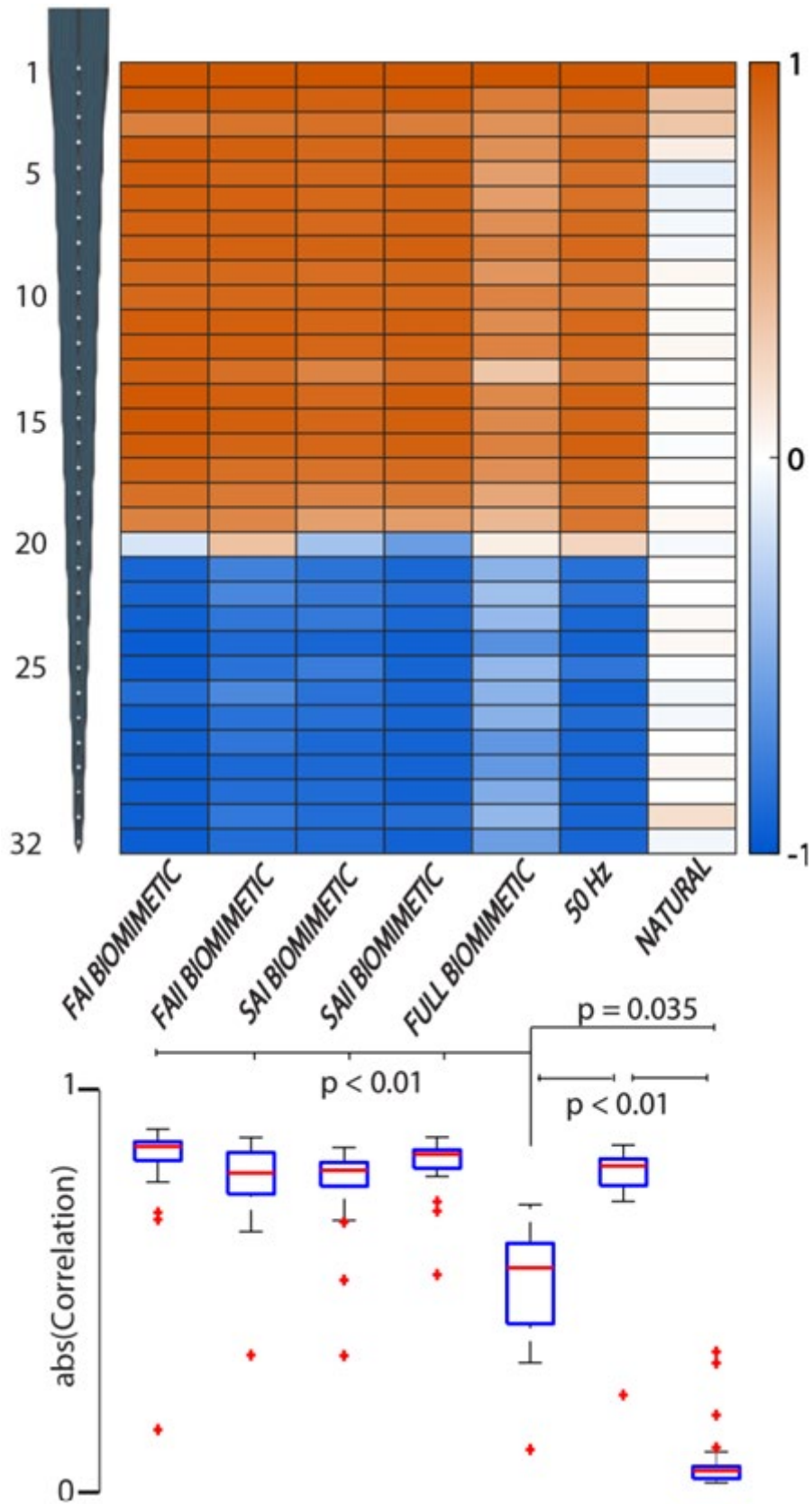


Рисунок S1 - Синхронизация нейрональной активности, вызванной в спинном мозге.

Мы сравнили и представили корреляцию между записью локального полевого потенциала в канале первого электрода и записями всех других каналов. Верхняя часть: Значения корреляции обозначены цветом и представлены вдоль осей электродов спинномозговых сегментов. Нижняя часть: Мы сравнили абсолютные значения коэффициента корреляции естественного с каждым биомиметическим состоянием, а также стимуляцию частотой 50 Гц при FULL биомиметическом и естественном прикосновении с помощью теста Крускала-Уоллиса. Прямоугольные диаграммы: Центральная метка указывает на медиану, а нижний и верхний края прямоугольника указывают на 25-й и 75-й проценти соответственно. Границы видимости расширены до самых экстремальных точек данных, которые не считаются выбросами, и эти выбросы отображаются отдельно с использованием красного символа "+". (значения p: FA1- FULL biom: <0,001; FA2- FULL biom: 0,001; SA1- FULL biom: 0,01; SA2- FULL biom: <0,001; 50 Гц- FULL biom: 0,001; Естественный- FULL biom: 0,035; 50 Гц-Естественный: $p < 0,001$; уровень значимости 1%, значение хи-квадрат 187,4).

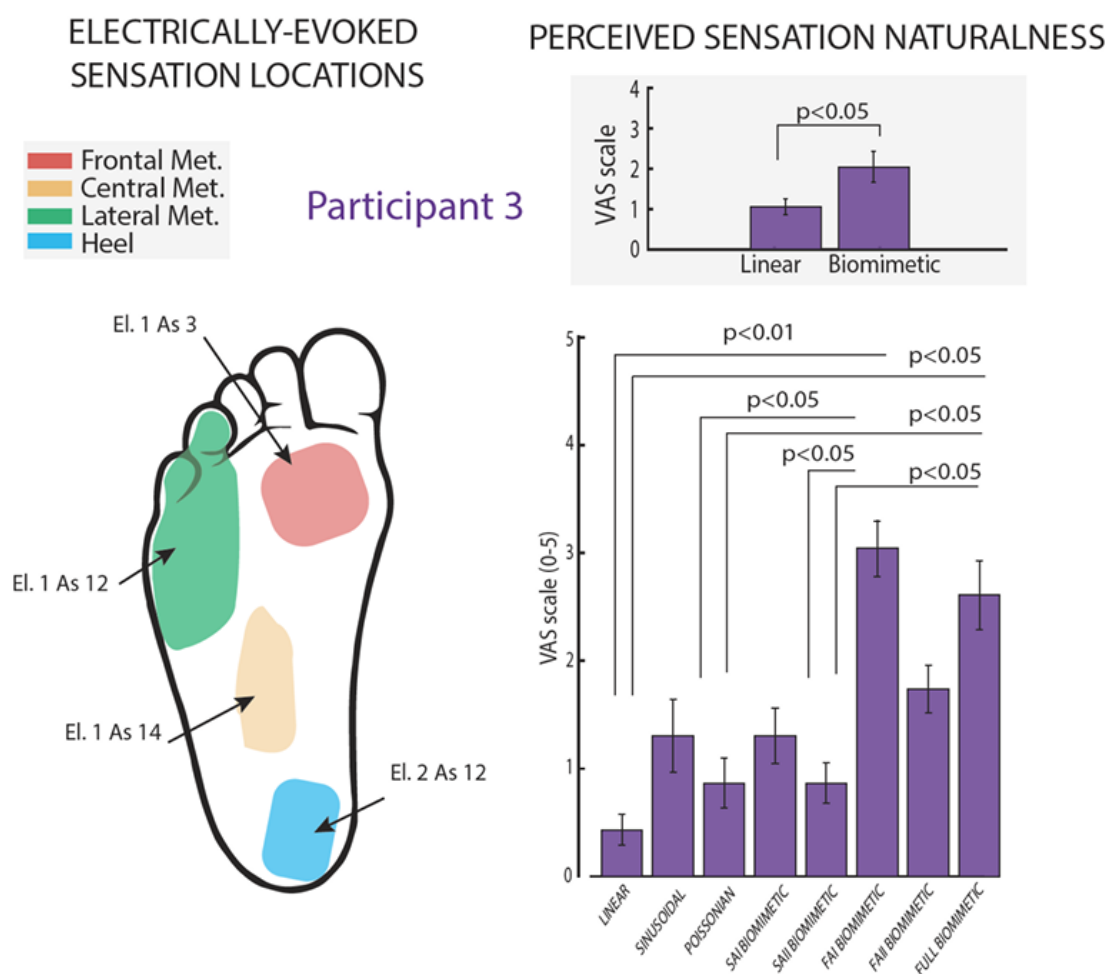


Рисунок S2 – Биомиметическая нейростимуляция вызвала у участника 3 более естественные ощущения, чем немиметические методы.

Карта проекционных полей участника 3, относящаяся к активным участкам, адаптированным для электрической стимуляции большеберцового нерва. Разными цветами показаны 4 основные области фантомной стопы (передняя, боковая и центральная плюсны, а также пятка). Оценка естественности (по шкале ВАШ от 0 до 5) ощущений, полученных при использовании различных стратегий стимуляции. Вставки: Групповое сравнение линейной и биомиметической стимуляции. Мы сравнили условия, используя тест Крускала-Уоллиса (n=16 повторений стимуляции). Была проведена специальная коррекция. БИОМАРКЕР: $p=0,0026$, $f=1,01$. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение. Исходные данные представлены в виде файла исходных данных.

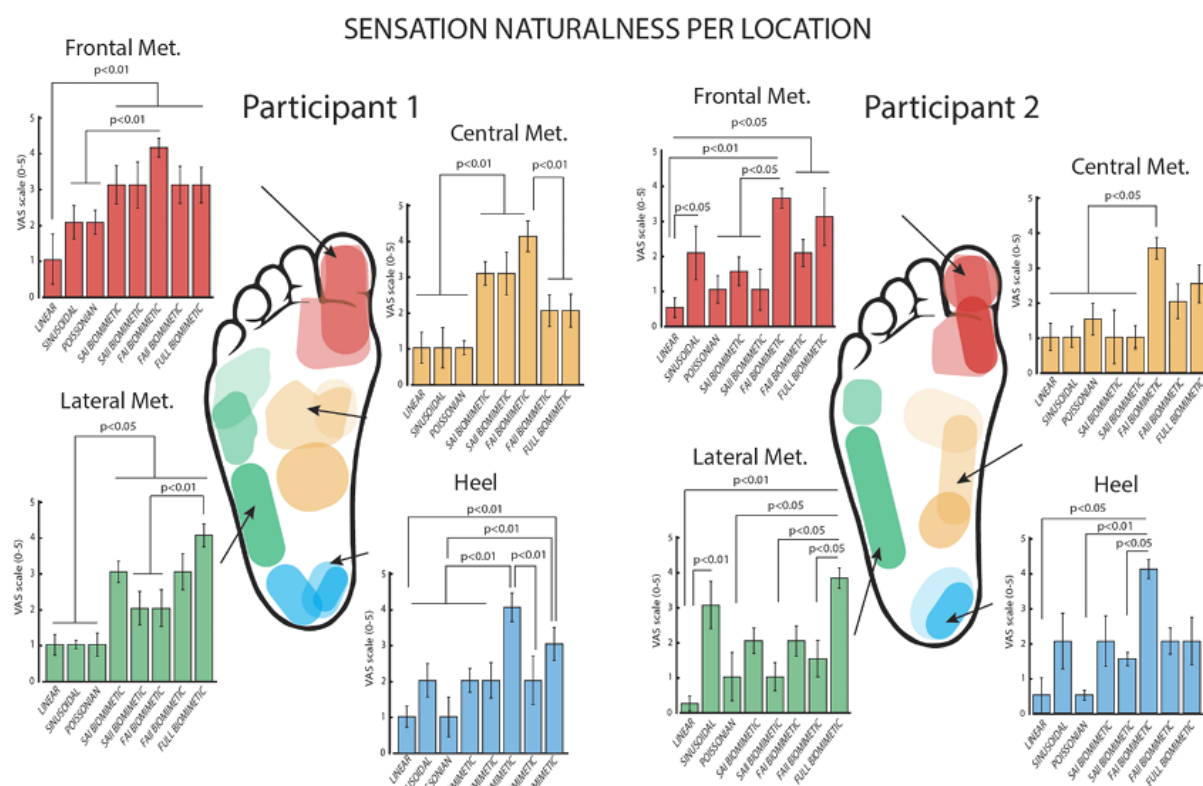


Рисунок S3 – Естественность электрических ощущений, связанных с различным расположением проекционных полей.

Проективные карты полей двух участников (1 и 2), относящиеся к активным участкам, используемым для электрической стимуляции нервов. Разными цветами показаны 4 основные области фантомной стопы (передняя, боковая и центральная плюсны и пятка). Оценка естественности (по визуально-аналоговой шкале от 0 до 5) воспринимаемых ощущений в разбивке по местоположению проецируемых полей. Мы сравнили условия с помощью теста Крускала-Уоллиса (участник 1: лобная плюсна: $n=15$; центральная плюсна: $n=15$; боковая плюсна: $n=21$; пятка: $n=24$; участник 2: лобная плюсна: $n=6$; центральная плюсна: $n=9$; боковая плюсна: $n=9$; пятка: $n=9$ на одно

повторение стимуляции в зависимости от состояния). Была проведена специальная коррекция. BIOM-LIN: $p=0,0026$, $f=1,01$. Данные представлены в виде медианных значений +/- стандартное отклонение. Исходные данные предоставляются в виде файла исходных данных.

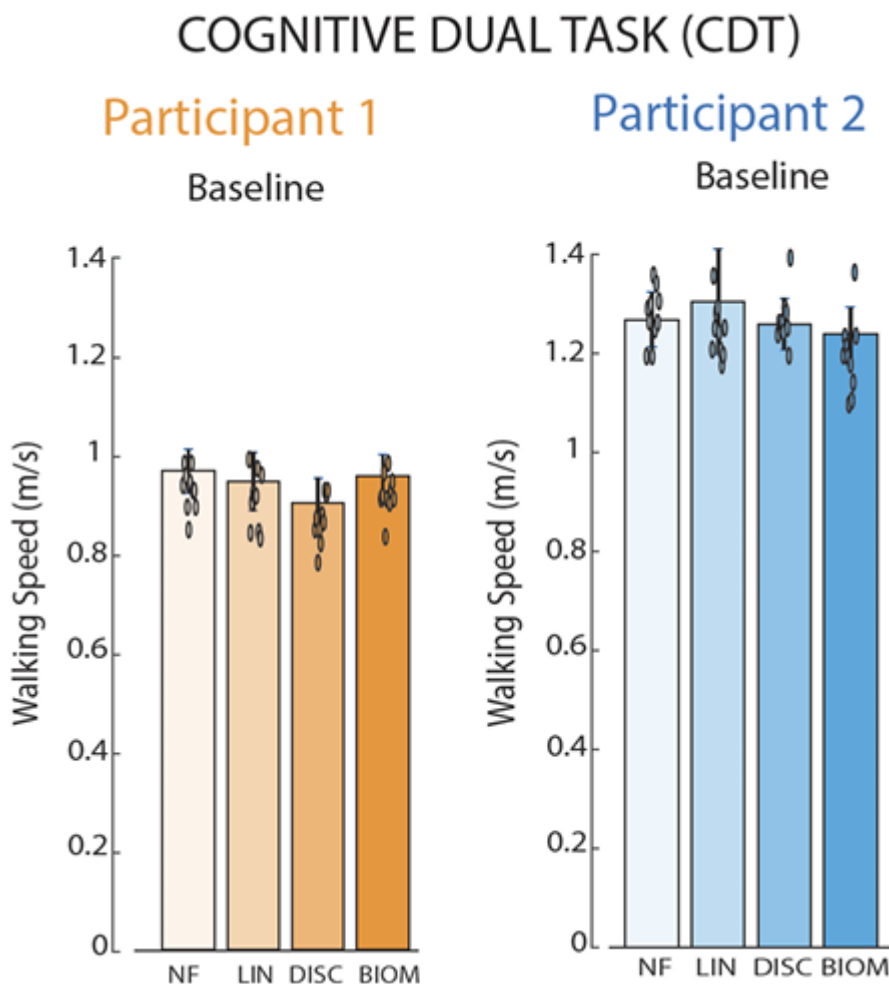


Рисунок S4 – Исходная скорость ходьбы в когнитивной двойной задаче (CDT).

Двигательные показатели (скорость ходьбы – м/с) участников 1 и 2 в двойном когнитивном задании (CDT) на исходном уровне (без заданной когнитивной нагрузки). Тестировались следующие условия: NF (Отсутствие обратной связи), LIN (линейная нейростимуляция), DISC (дискретная нейростимуляция) и BIO (биомиметическая нейростимуляция), $n=10$ для каждого условия, для обоих участников. Эллипсы, наложенные на линейчатый график, представляют отдельные точки данных. Данные представлены в виде медианных значений +/- стандартное отклонение. Исходные данные представлены в виде файла исходных данных.

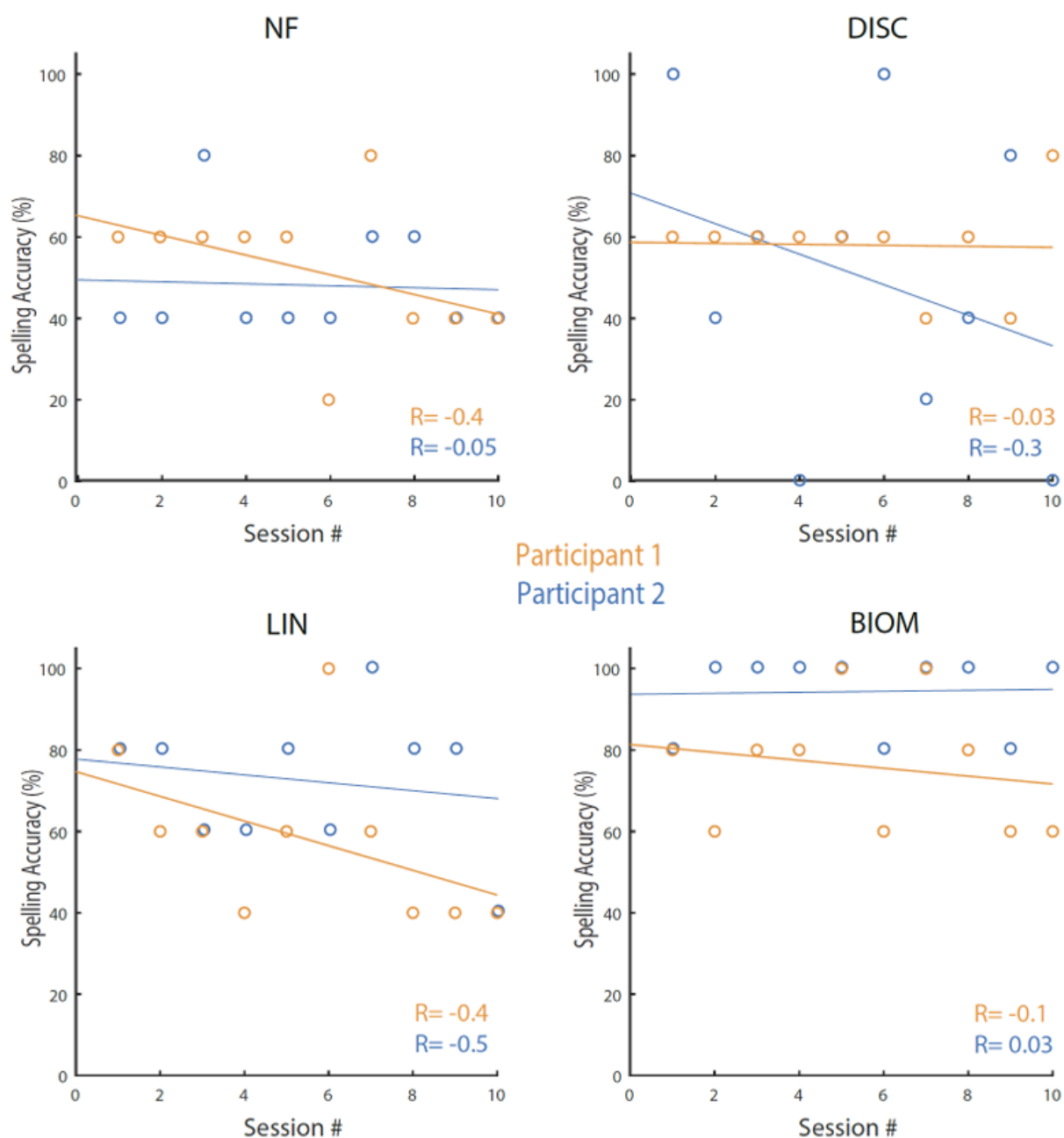


Рисунок S5 – Отсутствие влияния обучения на точность выполнения.

Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена по точности выполнения во время сеансов для участников 1 и 2. Тестировались следующие условия: NF (Отсутствие обратной связи), LIN (Линейная нейростимуляция), DISC (дискретная нейростимуляция) и BIOM (биомиметическая нейростимуляция). Исходные данные предоставляются в виде файла исходных данных.

Таблица 1 - Демографические данные участников.

Пациент	Причина ампутации	Уровень и сторона ампутации	Время после ампутации	Выраженность фантомных болей	Используемые протезы	Частота использования
1	Травма	Дистальные две трети правого бедра	2	Средняя	Пассивный протез (3R80 Ottobock)	Ежедневно
2	Травма	Дистальные две трети правого бедра	12	Средняя	Пассивный протез (3R80 Ottobock)	Ежедневно
3	Травма	Дистальные две трети левого бедра	7	Низкая	Пассивный протез (3R80 Ottobock)	Ежедневно