

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

ISSN 2074-5982 (print)

БИОМЕДИЦИНА

SCIENTIFIC JOURNAL

JOURNAL BIOMED

Том (Vol.) 15

2019

3



Филиалу «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России 90 лет!



12 июня 1929 года постановлением ЦИК и СНК СССР на станции «Столбовая» Московской области была образована экспериментальная база Института вирусологии Наркомздрава для разведения животных генетически чистых линий с целью изучения ультравирусов. Экспериментальная база обеспечивала лабораторными животными нужды медицинской науки и здравоохранения. Руководство страны всегда уделяло внимание этим вопросам, и работа по разведению инбредных крыс и мышей и поддержанию племенных ядер не прекращалась даже в годы Великой Отечественной войны.

В 1957 году на базе этого учреждения был создан питомник лабораторных животных АМН СССР, который продолжил работу по созданию новых линий лабораторных животных.

В настоящее время основными задачами филиала «Столбовая» НЦБМТ ФМБА России являются разведение, выращивание и реализация лабораторных животных — морских свинок, межлинейных гибридов, инбредных и аутбредных линий мышей, крыс и хомячков. Все заинтересованные потребители обеспечиваются животными высокого качества, конвенционального и SPF-статуса, контролируруемыми по генетическим, физиологическим, морфологическим признакам и состоянию здоровья.

Коллектив НЦБМТ ФМБА России сердечно поздравляет коллег с юбилеем и желает дальнейших успехов в работе, здоровья, счастья и благополучия!



142350, Московская обл., Чеховский р-н,
п. Столбовая, ул. Мира, д. 1а
Тел.: +7 (495) 996-59-52; +7 (496) 726-95-16
Закупка животных: +7 (964) 768-25-40;
+7 (916) 021-02-50
E-mail: biomaus@mail.ru



ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства России»

БИОМЕДИЦИНА

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2005 г.
4 выпуска в год

2019, Том 15, №3

Scientific Center of Biomedical Technologies
of the Federal Medical and Biological Agency of Russia

JOURNAL BIOMED

SCIENTIFIC JOURNAL

Published since 2005.
Quarterly.

2019, Vol. 15, No.3

БИОМЕДИЦИНА

Biomeditsina

Научный журнал «Биомедицина» основан в 2005 году Научным центром биомедицинских технологий Российской академии медицинских наук (в настоящее время — ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»). Журнал издается на русском и английском языках. В журнале публикуются исследования по новым биомедицинским технологиям, спортивной медицине, новым регуляторным пептидам, спортивному питанию, лабораторным животным, методам биомедицинских исследований, генетике лабораторных животных, фармакологии и клинической фармакологии, восстановительной и спортивной медицине, лечебной физкультуре. Журнал предназначен для ученых, аспирантов, преподавателей и студентов вузов, специалистов, работающих в области биологии, ветеринарии, медицины и биомедицины. В журнале опубликованы статьи авторов из 119 различных организаций (медицинских и биологических вузов, НИИ, центров повышения квалификации специалистов), география организаций включает в себя Москву, Санкт-Петербург, Астрахань, Урал, Саратов, Кабардино-Балкарию, Томск, Дальний Восток, Нидерланды.

■ Главный редактор

Каркищенко Николай Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, академик Российской академии ракетных и артиллерийских наук, академик Международной академии астронавтики (Париж), научный руководитель ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (пос. Светлые горы, Красногорский район, Московская область, Россия)

■ Заместитель главного редактора

Каркищенко Владислав Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, директор ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (пос. Светлые горы, Красногорский район, Московская область, Россия)

■ Ответственный секретарь

Алимкина Оксана Владимировна, научный сотрудник лаборатории нейротехнологий, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (пос. Светлые горы, Красногорский район, Московская область, Россия)

■ Редакционный совет

Анохин Константин Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, руководитель отдела нейронаук НИЦ «Курчатовский институт» (Москва, Россия)

Ачкасов Евгений Евгеньевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой спортивной медицины и медицинской реабилита-

ции, ФГАОУ ВО «Первый Московский медицинский государственный университет им. И. М. Сеченова» Минздрава России (Москва, Россия)

Баранов Виктор Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заместитель генерального директора — директор НИИ космической медицины ФНKC Федерального медико-биологического агентства (Москва, Россия)

Берзин Игорь Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач РФ, начальник Управления организации научных исследований Федерального медико-биологического агентства (Москва, Россия)

Быков Анатолий Тимофеевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, заслуженный врач РФ, заведующий кафедрой восстановительной медицины, физиотерапии, мануальной терапии, ЛФК и спортивной медицины ФПК и ППС, «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Сочи, Россия)

Влахов Витан, доктор медицинских наук (Болгария), профессор, академик Болгарской академии наук и искусств, консультант по клинической фармакологии и терапии, Медицинский Университет (София, Болгария)

Воевода Михаил Иванович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал государственного бюджетного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (Новосибирск, Россия)

БИОМЕДИЦИНА

Biomeditsina

Гасанов Мелик Тофикович, кандидат медицинских наук, доцент, заместитель директора по научной работе, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (пос. Светлые горы, Краснoгорский район, Московская область, Россия)

Дыгай Александр Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки, заместитель академика-секретаря — руководитель секции медицинских наук РАН, директор, заведующий отделом патофизиологии и регенеративной медицины, ФГБУ «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга» (Томск, Россия)

Зефирoв Андрей Львович, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации и Республики Татарстан, заведующий кафедрой нормальной физиологии, декан лечебного факультета ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Казань, Россия)

Кузденбаева Раиса Салмаганбетовна, доктор медицинских наук, профессор, академик Национальной академии наук Казахстана, член-корр. Академии медицинских наук Республики Казахстан и Академии профилактической медицины Республики Казахстан, начальник управления фармакологической экспертизы, «Национальный центр экспертизы лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники Минздрава Республики Казахстан (Астана, Казахстан)

Кукес Владимир Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, профессор кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней, ФГАОУ ВО «Первый Московский медицинский государственный университет им. И. М. Сеченова» Минздрава России (Москва, Россия)

Макляков Юрий Степанович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии, Ростовский государственный медицинский университет (Ростов-на-Дону, Россия)

Матишов Геннадий Григорьевич, доктор географических наук, профессор, академик РАН, член Президиума РАН, научный руководитель Южного научного центра РАН, председатель Президиума ЮНЦ РАН (Ростов-на-Дону, Россия)

Мирошников Анатолий Иванович, доктор химических наук, академик РАН, председатель Пушкинского научного центра РАН, заместитель директора, ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН», председатель, «Пушкинский научный центр РАН» (Москва, Россия)

Мурашëв Аркадий Николаевич, доктор биологических наук, профессор, заместитель директора, руководитель лаборатории биологических испытаний, филиал ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН» (Пушино, Московская область, Россия)

Оковитый Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии, ФГБУ ВО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Пчелинцев Сергей Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор, директор, ОАО «Институт инженерной иммунологии» (дер. Любучаны, Чеховский район, Московская область, Россия)

Раменская Галина Владиславовна, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии, ФГАОУ ВО «Первый Московский медицинский государственный университет им. И. М. Сеченова» Минздрава России (Москва, Россия)

Решетов Игорь Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой онкологии, радиотерапии и пластической хирургии Института Профессионального образования ФГАОУ ВО «Первый Московский медицинский государственный университет им. И. М. Сеченова» Минздрава России (Москва, Россия)

Сычев Дмитрий Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, проректор по развитию и инновациям, заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии, ФГБОУ УД ПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» (Москва, Россия)

Хритинин Дмитрий Федорович, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, профессор кафедры психиатрии и наркологии ФГАОУ ВО «Первый Московский медицинский государственный университет им. И. М. Сеченова» Минздрава России (Москва, Россия)

БИОМЕДИЦИНА

Biomeditsina

Цыганков Борис Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, заведующий кафедрой психиатрии, наркологии и психотерапии ФПДО ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России (Москва, Россия)

Цысь Валентина Ивановна, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАЕН, профессор кафедры зоотехнии ФГБОУ ВО «Смоленская государственная сельскохозяйственная академия» (Смоленск, Россия)

Ших Евгения Валерьевна, доктор медицинских наук, профессор, директор института професси-

онального образования, заведующая кафедрой клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней, ФГАОУ ВО «Первый Московский медицинский государственный университет им. И. М. Сеченова» Минздрава России (Москва, Россия)

Шустов Евгений Борисович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕН, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГОУ ВО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия» Минздрава России, главный научный сотрудник, ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (Санкт-Петербург, Россия)

БИОМЕДИЦИНА

Biomeditsina

История издания журнала:	Журнал издается с 2005 г.
Периодичность:	4 выпуска в год
Префикс DOI:	10.33647
ISSN	2074-5982 (Print)
Свидетельство о регистрации СМИ:	Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати. Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС77-21324 от 09.06.2005
Индексация:	Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук
Стоимость одного выпуска:	400 руб.
Условия распространения материалов:	Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License
Учредитель:	ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России» 143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, владение 1
Издатель:	ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России» 143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, владение 1
Редакция:	143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, владение 1 Тел.: +7 (495) 561-52-64 E-mail: scbmt@yandex.ru
Тираж:	3000 экземпляров
Типография:	ООО «БЕАН» 603003, Нижегородская обл, Нижний Новгород, ул. Баррикад, д. 1

JOURNAL BIOMED

Scientific journal “Journal Biomed” was founded in 2005 by the Scientific Center for Biomedical Technology of the Russian Academy of Medical Sciences (now Scientific Center of Biomedical Technology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia). The magazine is published in Russian and English languages. The journal publishes research on new biomedical technologies, sports medicine, new regulatory peptides, sports nutrition, laboratory animals, methods of biomedical research, genetics laboratory animals, pharmacology and clinical pharmacology, rehabilitation and sports medicine, physical therapy. The journal is intended for scientists, graduate students, teachers and university students, professionals working in the field of biology, veterinary medicine and biomedicine. The magazine published articles by authors from 119 different organizations (medical and biological universities, research institutes, centers of advanced training), geography organizations includes Moscow, St. Petersburg, Astrakhan, Ural, Saratov, Kabardino-Balkaria, Tomsk, the Far East, the Netherlands.

■ Editor-in-Chief

Nikolay N. Karkischenko, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Rocket and Artillery Sciences, Academician of the International Academy of astronautics (Paris), Academic Director of the Scientific Center of Biomedical Technology of the Federal Medical and Biological Agency (Svetlye Gory, Krasnogorsk District, Moscow Region, Russia)

■ Deputy Editor-in-Chief

Vladislav N. Karkischenko, Doctor of Medical Sciences, Professor, Director of the Scientific Center of Biomedical Technology of the Federal Medical and Biological Agency (Svetlye Gory, Krasnogorsk District, Moscow Region, Russia)

■ Executive Secretary

Oksana V. Alimkina, Researcher of the Laboratory of Neurotechnologies, Scientific Center of Biomedical Technology of the Federal Medical and Biological Agency (Svetlye Gory, Krasnogorsk District, Moscow Region, Russia)

■ Editorial Council

Evgeniy E. Achkasov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Sports Medicine and Rehabilitation, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Konstantin V. Anokhin, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Neuroscience, Kurchatov Institute (Moscow, Russia)

Viktor M. Baranov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Deputy General Director — Director of the Research Institute of Space Medicine, Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Assistance and Medical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency (Moscow, Russia)

Igor A. Berzin, Doctor of Medical Sciences, Professor, Honored Doctor of the Russian Federation, Head of the organization of scientific research Department, Federal Medical and Biological Agency (Moscow, Russia)

Anatoliy T. Bykov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Rehabilitation Medicine, Physiotherapy, Manual Therapy, Physical Therapy and Sports Medicine of the Faculty of Advanced Training and Professional Retraining, Kuban State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sochi, Russia)

Aleksandr M. Dygay, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, the deputy Academician-secretary — the Head of section of medical sciences, Director, Head of the Department of Pathophysiology and Regenerative Medicine, E. D. Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine (Tomsk, Russia)

Melik T. Gasanov, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Deputy Director for Science, Scientific Center of Biomedical Technology of the Federal Medical and Biological Agency (Svetlye Gory, Krasnogorsk District, Moscow Region, Russia)

JOURNAL BIOMED

Dmitriy F. Khritinin, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor of the Department of Psychiatry and Addiction, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Vladimir G. Kukes, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Honored Scientist of the Russian Federation, Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Propaedeutics of Internal Diseases, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Raisa S. Kuzdenbayeva, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, Corresponding Member of the Academy of Medical Sciences of the Republic of Kazakhstan and of the Academy of Preventive Medicine of the Republic of Kazakhstan, Head of the Pharmacological Examination Department of the National Center for Expertise of Medicines, Medical Devices and Medical Equipment of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan (Astana, Kazakhstan)

Yuriy S. Maklyakov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russian Federation (Rostov-on-Don, Russia)

Gennadiy G. Matishov, Doctor of Geographical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Academic Director of the Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Chairman of the Presidium of the Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences (Rostov-on-Don, Russia)

Anatoliy I. Miroshnikov, Doctor of Chemical Sciences, Academician of the Russian Academy of Sciences, Chairman of the Pushchino Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director of the Shemyakin — Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

Arkadiy N. Murashev, Doctor of Biological Sciences, Professor, Deputy Director, Head of the Laboratory of Biological Testing, Branch of the Shemyakin — Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences (Pushchino, Moscow region, Russia)

Sergey V. Okovityi, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Saint-Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation (Saint Petersburg, Russia)

Sergey Yu. Pchelintsev, Doctor of Medical Sciences, Professor, Director, Institute of Immunological Engineering (Lyubuchany, Chekhov District, Moscow Region, Russia)

Galina V. Ramenskaya, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Igor V. Reshetov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, the Head of the Department of oncology, radiotherapy and plastic surgery of the Institute of Professional Education, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Evgenia V. Shikh, Doctor of Medical Sciences, Professor, Director of the Institute of Vocational Education, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Propaedeutics of Internal Diseases, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Evgeniy B. Shustov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Natural Sciences, Professor of pharmacology and clinical pharmacology Department, Saint-Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Chief Scientist, Institute of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency (Saint Petersburg, Russia)

Dmitriy A. Sychev, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Vice rector for Development and Innovations, Head of Department of Clinical Pharmacology and Therapeutics, Russian Medical Academy of Postgraduate Education (Moscow, Russia)

Boris D. Tsygankov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Psychiatry, Psychotherapy and Addiction, A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (Moscow, Russia)

JOURNAL BIOMED

Valentina I. Tsys, Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Natural Sciences, Professor of the Department of Animal Breeding, Smolensk State Agricultural Academy (Smolensk, Russia)

Vitan Vlahov, Doctor of Medical Sciences (Bulgaria), Professor, Academician of the Bulgarian Academy of Sciences and Arts, Consultant on Clinical Pharmacology and Therapeutics, Medical University (Sofia, Bulgaria)

Mikhail I. Voevoda, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of

Sciences, Director, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine — Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia)

Andrey L. Zefirov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Honored Scientist of the Russian Federation and Republic of Tatarstan, Head of the Department of Normal Physiology, Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Kazan, Russia)

JOURNAL BIOMED

Founded:	The journal has been published since 2005.
Frequency:	Quarterly
DOI Prefix:	10.33647
ISSN	2074-5982 (Print)
Mass media registration certificate:	Registered at the State Committee of the Russian Federation on Press under the number ПИ № ФС77-21324 от 09.06.2005
Indexing:	The Journal is included into the Higher Attestation Commission (HAC) list of periodicals (the list of leading per-reviewed scientific journals recommended for publishing the basic research results of doctor and candidate theses)
Price:	400 RUR
Content distribution terms:	Content is distributed under Creative Commons Attribution 4.0 License
Founders:	Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia 143442, Russian Federation, Moscow region, Krasnogorsk district, Svetlye gory village, building 1
Publisher:	Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia 143442, Russian Federation, Moscow region, Krasnogorsk district, Svetlye gory village, building 1
Editorial office:	143442, Russian Federation, Moscow region, Krasnogorsk district, Svetlye gory village, building 1 Tel.: +7 (495) 561-52-64 E-mail: scbmt@yandex.ru
Circulation:	3000 copies
Printing house:	BEAN, LLC. 603003, Russian Federation, Nizhny Novgorod region, Nizhny Novgorod, Barrikad str., 1

■ НОВЫЕ БИМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

Н.В. Петрова

Ген лептина — маркер клеточной терапии метаболического синдрома 12

Ю.В. Фокин

Сравнительная оценка влияния психоактивных средств
на гиппокампальные тета- и гамма-ритмы 23

■ РЕЛЕВАНТНОЕ И АЛЬТЕРНАТИВНОЕ БИМОДЕЛИРОВАНИЕ

**И.Н. Смирнова, Н.И. Суслов, И.А. Хлусов, К.В. Зайцев, А.А. Гостюхина,
С.В. Верещагина, Н.Г. Абдулкина**

Экспериментальное обоснование применения пантов марала
на фоне экстремальных психоэмоциональных нагрузок 33

■ МЕТОДЫ БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Е.В. Ганцгорн, Д.П. Хлопонин, П.А. Хлопонин, Ю.С. Макляков

Оценка церебропротекторной активности комбинаций ноотропов с мелаксенон
посредством морфологического анализа на модели ишемии головного мозга у крыс . . . 41

И.Л. Котович, Ж.А. Рутковская, А.Д. Таганович

Показатели окислительного стресса в легких при ингаляционном введении липосом
на основе яичного лецитина в условиях экспериментальной гипероксии 49

Е.В. Курьянова, А.В. Трясучев, В.О. Ступин, Ю.Д. Жукова, Н.А. Горст

Влияние гексаметония, атропина, анаприлина и их комбинации
на вариабельность сердечного ритма крыс 59

Н.Е. Максимович, Е.И. Бонь, И.К. Дремза

Изучение функций митохондрий в эксперименте 71

■ ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО НОВЫМ МЕДИЦИНСКИМ ТЕХНОЛОГИЯМ

**И.Б. Алексеев, А.Р. Коригодский, Е.Н. Иомдина, А.А. Федоров, В.Е. Белкин,
А.И. Самойленко, Ю.К. Барышева**

Экспериментальное исследование свойств нового отечественного протеза
стекловидного тела «Витреолон» в сравнении с силиконовым маслом
при смоделированной отслойке сетчатки у кроликов 78

А.Ю. Жариков, С.Э. Лоренц, И.П. Бобров, О.Н. Мазко, О.Г. Макарова

Поиск новых молекул олигопептидов для фармакологической коррекции
НПВС-индуцированной язвы желудка 90

■ NEW BIOMEDICAL TECHNOLOGIES

Nataliya V. Petrova

The Leptin Gene is a Marker for the Cell Therapy of Metabolic Syndrome 12

Yuriy V. Fokin

Comparative Evaluation of the Effect of Psychoactive Medicines
on Hippocampal Theta and Gamma Rhythms 23

■ RELEVANT AND ALTERNATIVE BIOMODELING

**Irina N. Smirnova, Nikolay I. Suslov, Igor A. Khlusov, Konstantin V. Zaytsev,
Alena A. Gostyukhina, Svetlana V. Vereshchagina, Nataliya G. Abdulkina**

Experimental Substantiation of the Use of Maral Deer Antlers for Combating
Extreme Psycho-Emotional Stress 33

■ BIOMEDICAL METHODS

Elena V. Gantsgorn, Dmitriy P. Khloponin, Peter A. Khloponin, Yuriy S. Maklyakov

Evaluation of the Cerebroprotective Activity of Nootropics in Combination
with Melaxen by a Morphological Analysis Using a Model of Brain Ischemia in Rats 41

Irina L. Kotovich, Zhanna A. Rutkovskaya, Anatoliy D. Taganovich

Oxidative Stress Markers in the Lungs under Experimental Hyperoxia
with Inhaled Liposomes Based on Egg Lecithin 49

**Evgeniya V. Kuryanova, Andrey V. Tryasuchev, Victor O. Stupin, Yuliya D. Zhukova,
Nina A. Gorst**

Effect of Hexametonium, Atropine, Anaprilin and Their Combination
on the Heart Rate Variability in Rats 59

Nataliya Ye. Maksimovich, Elizaveta I. Bon, Iosif K. Dremza

Research into the Functions of Mitochondria in Experiment 71

■ NON-CLINICAL RESEARCHES ON NEW MEDICAL TECHNOLOGIES

**Igor B. Alekseyev, Alexander R. Korigodskiy, Elena N. Iomdina, Anatoly A. Fedorov,
Vitaly E. Belkin, Alexander I. Samoynenko, Yulia K. Barysheva**

An Experimental Study of a Novel Domestic Vitreous Substitute “Vitreolon”
in Comparison with Silicone Oil in Simulated Retinal Detachment in Rabbits 78

**Aleksandr Yu. Zharikov, Samira E. Lorents, Igor P. Bobrov, Olesya N. Mazko,
Olesya G. Makarova**

Search for New Oligopeptide Molecules for Pharmacological Correction
of Nsaids-Induced Gastric Ulcer 90

ГЕН ЛЕПТИНА — МАРКЕР КЛЕТочНОЙ ТЕРАПИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Н. В. Петрова

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства России»

143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, владение 1

Показано, что анализ уровня экспрессии гена *Lep* является маркером для мышей линии B/Ks-*Lep*^{db/+}, служащей оптимальной моделью для описания метаболического синдрома (МС) в доклинических исследованиях. Мышам проведена трансплантация культивированных изогенных клеток костного мозга (ККМ) от гетерозиготных db/+ доноров. Реципиенты были разделены на группы по разным стадиям развития МС — ранняя и выраженная. Проанализирована экспрессия гена *Lep* на 3-и, 8-е и 14-е сут после введения стволовых ККМ в клетках головного мозга, печени и поджелудочной железы методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Экспрессию гена *Lep* оценивали в количестве копий кДНК. Согласно данным нашей лаборатории, лептин является полноценным регулятором обменных процессов за счет своего влияния на гипоталамус, который, в свою очередь, совместно с гиппокампом, контролирует продукцию ацетилхолина и инсулина в мозге. Нами доказана роль *Lep* гена как количественного оценочного критерия эффективности клеточной терапии при МС.

Ключевые слова: кДНК, метаболический синдром (МС), мыши линии B/Ks-*Lep*^{db/+}, экспрессия гена, ген лептина *Lep*, стволовые клетки костного мозга (СККМ)

Конфликт интересов: автор заявил об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности: Автор выражает благодарность научному руководителю — директору ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России», д. м. н., проф. Каркищенко Владиславу Николаевичу за поддержку, выбор темы, консультативную помощь, рекомендации по оформлению статьи, а также выражает признательность заведующей лабораторией клеточных технологий ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России», к. б. н. Степановой Ольге Ивановне за содействие в работе и проведение культуральных исследований.

Для цитирования: Петрова Н. В. Ген лептина — маркер клеточной терапии метаболического синдрома. *Биомедицина*. 2019;15(3):12–22. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-12-22>

Поступила 22.05.2019

Принята после доработки 08.08.2019

Опубликована 10.09.2019

THE LEPTIN GENE IS A MARKER FOR THE CELL THERAPY OF METABOLIC SYNDROME

Nataliya V. Petrova

Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow region, Krasnogorsk district, Svetlye gory village, building 1

It is shown that the level of the *Lep* gene expression is a marker for B/Ks-*Lep*^{db/+} mice, which line serves as an optimal model for describing metabolic syndrome (MS) in preclinical studies. Mice were transplanted with cultured isogenic bone marrow cells (BMC) from heterozygous db/+ donors. The recipients were divided into two groups according to an early or advanced stage of MS development. We analyzed the

expression of the *Lep* gene on the 3rd, 8th and 14th day following the administration of stem BMCs in the brain, liver and pancreas cells by polymerase chain reaction (PCR) in real time. The *Lep* gene expression was evaluated in terms of the number of cDNA copies. According to our data, leptin is a complete regulator of metabolic processes due to its effect on the hypothalamus, which, together with the hippocampus, controls the production of acetylcholine and insulin in the brain. We have proven the role of the *Lep* gene as a quantitative criterion for evaluating the efficacy of a cell therapy in MS.

Keywords: cDNA, metabolic syndrome (MS), B/Ks-Lepr^{db/+} mice, gene expression, *Lep* leptin gene, bone marrow stem cells (BMSC)

Conflict of interest: the author declares no conflict of interest.

Acknowledgments: The author would like to express her sincere appreciation to her supervisor — director of the Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Dr. Sci. (Med.), Prof. Vladislav Nikolayevich Karkischenko for his support, choice of the topic, advisory assistance, recommendations on writing the manuscript. The author is also grateful to the head of the Cell Technology Laboratory of the Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Cand. Sci. (Biol.) Olga Ivanovna Stepanova for her valuable assistance in conducting the work.

For citation: Petrova N.V. The Leptin Gene is a Marker for the Cell Therapy of Metabolic Syndrome. *Journal Biomed.* 2019;15(3):12–22. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-12-22>

Submitted 22.05.2019

Revised 08.08.2019

Published 10.09.2019

Введение

Существует достаточно большое количество генов с установленной функцией и еще большее количество генов-кандидатов, играющих определенную роль при формировании основных проявлений метаболического синдрома (МС) [5].

Наиболее изучаемы из кандидатных генов — мутации генов лептина, рецептора лептина, предшественника гормона конвертазы 1, проопиомеланокортина, рецептора мелано-кортина-4 и др. [2, 1, 7]. Поэтому в 1990 г. было предложено каталогизировать все генетические варианты и хромосомные локусы, связанные с ожирением, в генетическую карту ожирения (<http://obesitygene.pbrc.edu>) [13].

Лептин представляет собой полипептидный гормон с молекулярной массой около 16 кДа и кодируется геном *ob* (от англ. «obesity»), который был открыт при позиционном клонировании у мышей. Ген лептина у мышей находится в проксимальной части 6-й хромосомы мыши [8]. Была определена нуклеотидная последовательность

кДНК гена, которая содержала открытую рамку считывания для белка из 167-ми аминокислотных остатков и очень длинную 3'-нетранслируемую область [14]. Рецессивные мутации гена в гомозиготном состоянии приводят у мышей к накоплению избыточного веса и развитию сахарного диабета типа 2 [10].

Предполагается, что ген лептина, наряду с др. генами ожирения, связан с фенотипами ожирения у человека [1]. Ген рецептора лептина (*LEPR*) кодирует рецептор трансмембранной области, через который ген лептина (*LEP*), адипоцитспецифического гормона, регулирует массу жировой ткани, процессы приема пищи и расходы энергии. Рецептор лептина отвечает за передачу сигнала лептина в гипоталамусе до нескольких преобразователей сигнала и активатора транскрипции, а также является основным лептин-связывающим белком в крови [4].

Лептин циркулирует в кровотоке как в свободной, так и в связанной со специфическими белками формах. При этом

уровень секретируемого лептина, как правило, соответствует массе жировой ткани в организме [3]. У женщин концентрация лептина в крови значительно выше, чем у мужчин [9].

Цель работы — количественная характеристика экспрессии гена *Lep* лабораторных мышей линии *V/Ks-Lep^{db/+}*, находящихся на разных стадиях МС при введении СККМ.

Задачами исследования являлись:

- проведение биоинформационного анализа с помощью базы NCBA последовательностей гена *Lep* мышей, специфичных для отбора наиболее перспективных нуклеотидных последовательностей для использования в синтезе праймеров и флюоресцирующего зонда;
- подбор и исследование расчетным и эмпирическим путем оптимальных конечных концентраций компонентов ПЦР-системы в режиме реального времени: дезоксирибонуклеотидтрифосфатов, ионов магния (Mg^{2+}) и олигонуклеотидных праймеров и зонда;
- проведение молекулярно-генетического исследования уровней экспрессии гена *Lep* у мышей линии *V/Ks-Lep^{db/+}*, находящихся на разных стадиях развития МС, до и после введения ККМ. Сравнение уровней экспрессии гена *Lep* в клетках головного мозга, печени и поджелудочной железы методом ПЦР в режиме реального времени на разных сроках.

Материалы и методы

Экспрессию гена *Lep* изучали на мышьях-реципиентах линии *V/Ks-Lep^{db/+}* (*db/db*), которые несут рецессивный ген *leptin receptor-Lep^{db}*. Ген *db* в гомозиготном состоянии вызывает диабет без дефицита инсулина. Гомозиготные мыши *db/db* были разделены на 3 группы в зависимости от стадии развития МС:

группа 1 — особи, находящиеся на ранней стадии развития МС ($n=10$), которым провели однократное введение ККМ смешанной культуры гемопоэтических клеток костного мозга (ГПККМ) и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга (ММСККМ), культивированных в течение 5-ти сут. Введение внутрибрюшинное по 10 млн клеток;

группа 2 — мыши на стадии выраженных клинических признаков развития болезни ($n=10$), с однократным введением ККМ смешанной культуры ГПККМ и ММСККМ, культивированных в течение 5-ти сут. Введение внутрибрюшинное по 10 млн клеток;

группа 3 — контрольные (без введения донорских СККМ) животные на стадии выраженных клинических признаков развития болезни ($n=10$), с внутрибрюшинным введением физ. р-ра в тех же объемах.

В качестве доноров стволовых и прогениторных ККМ использовали фенотипически здоровых гетерозиготных мышей той же линии *db/+*.

Всех экспериментальных животных содержали в условиях свободного доступа к воде и пище на рациональном питании (без диет), соответствующем нормативам ГОСТ.

Для решения поставленных задач работа проводилась в несколько этапов.

Проведение культуральных исследований

Работы по выделению клеток и их культивированию проводились в соответствии с общими принципами культуральных исследований на живых и трупных донорах сотрудниками лаборатории клеточных технологий ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Жизнеспособность клеток гемопоэтической и стромальной фракций ККМ исследовали по окраске трипановым синим, а пролиферативную активность в культуре стромальных ККМ — по скорости образования монослоя.

Морфологическое исследование тканей и органов

Гистологический анализ выполнен на мышах db/db экспериментальных и контрольной групп после введения ККМ с интервалом 3, 8 и 14 сут. Для исследования отобраны образцы тканей органов-мишеней, которые подвергались стандартному гистологическому анализу.

Исследования методом ПЦР в режиме реального времени

Материалом для исследования служили ткани различных органов (печень, поджелудочная железа, головной мозг) мышей db/db экспериментальных групп. Забор материала осуществляли строго по времени. Интервал наблюдения: первая точка — до введения ККМ, затем на 3-и, 8-е и 14-е сут после введения стволовых клеток.

Исследование экспрессии гена *Lep* мышей линии db/db в разных органах проводили методом ПЦР в режиме реального времени. При использовании специфических праймеров и зонда к генам (табл. 1) на детектирующем амплификаторе CFX-96 («Bio-Rad», США).

Из исследуемого материала выделяли тотальную РНК на магнитных частицах с помощью набора для выделения «МАГНО-сорб» на автоматической станции выделения нуклеиновых кислот и белков «Kingfisher DUO» («ThermoScientific»,

Финляндия). Синтез первой цепи кДНК проводили согласно инструкции «Комплект реагентов для получения кДНК на матрице РНК РЕВЕРТА-L» («ИнтерЛабСервис», Россия). Количество исследуемых кДНК в образцах рассчитывали путем определения пороговых циклов ПЦР.

Стадию амплификации кДНК *Lep* на детектирующем амплификаторе CFX-96 («Bio-Rad», США) в режиме реального времени проводили в 25 мкл смеси следующего состава ПЦР-буфера (×10): 700 мМТрис-НСl, рН 8,6/25 °С, 166 мМ (NH₄)₂SO₄, 25 мМ MgCl₂, 0,2 мМ dNTPs, Taq-полимераза.

Подбор оптимальных условий проведения амплификации представлен в табл. 2.

Результаты и их обсуждение

После трансплантации культивированных изогенных ККМ реципиентам от гетерозиготных db/+ доноров установлено, что на 3-и, 8-е и 14-е сут гистологически у мышей db/db экспериментальных и контрольной групп были выявлены нарушения в структуре поджелудочной железы и печени, типичные для МС.

В исследуемом биоматериале на 3-и, 8-е и 14-е сут после введения ККМ ни в одной из групп не было выявлено структурной позитивной динамики в органах, которые, как правило, проявляются после клеточной терапии позже — на сроках, начиная с 21–27–30 дней после введения клеток. Однако изме-

Таблица 1. Олигонуклеотидные праймеры и зонд ПЦР-системы

Table 1. Oligonucleotide primers and probe PCR system

Исследуемая мишень гена <i>Lep</i>	Олигонуклеотидные праймеры и зонд
MusDB F	5-TCACCTCCGTCACAGAAGA-3
MusDB R	5-GGCTCTACTGGAATGGAACC-3
MusDB Z	ROX-TTCCACGCACAGTCACAAGATAATG-BHQ-2

Таблица 2. Режимы проведения амплификации в реальном времени

Table 2. Real-time amplification modes

Режимы	Температура	Продолжительность	Число циклов
Начальная денатурация	95 °С	3 мин	45
Денатурация	95 °С	20 сек	
Отжиг	57 °С	40 сек	
Элонгация	72 °С	30 сек	

нение уровня экспрессии гена *Lep* в органах мышей-реципиентов db/db мы зафиксировали уже на 3-и сут после трансплантации ККМ.

Экспрессию гена *Lep* в органах мышей-реципиентов db/db оценивали в количестве копий кДНК. Полученные результаты исследования экспрессии гена *Lep* и распределения его соотношения в различные интервалы времени забора биоматериала представлены на рисунках.

Клетки поджелудочной железы

В поджелудочной железе наблюдается увеличение уровня экспрессии гена *Lep* у исследуемых животных во всех группах, от 1-го дня до 3-х сут, — в 2,5 раза у мышей на ранней стадии заболевания и почти в 4 раза у мышей на выраженной стадии. На 14-е сут наблюдается снижение активности гена. Терапевтическое действие более явно прослеживается в группе мышей на ранней стадии МС, начиная с 3-х сут после введения ККМ.

Клетки головного мозга

В головном мозге наблюдается увеличение уровня экспрессии гена *Lep* в 1,3 раза на 3-и сут у исследуемых животных на ранней стадии заболевания, затем, к 14-м сут, наблюдается снижение уровня экспрессии в 6 раз по сравнению с исходным. У мышей на выраженной стадии заболевания изначально очень высокий уровень экспрессии, на 3-и сут происходит снижение (в 9 раз)

и дальнейшие незначительное увеличение активности гена *Lep*.

Клетки печени

Уровень экспрессии гена *Lep* в клетках печени мышей менялся на протяжении всего эксперимента: у животных на ранней стадии развития МС вырос на 3-и сут в 1,3 раза по сравнению с экспрессией до введения стволовых клеток и упал в 8,5 раза на 8-е сут, затем несколько увеличился на 14-е сут. У мышей на выраженной стадии развития МС уровень экспрессии гена упал на 8-е сут в 3,5 раза по сравнению со значением до введения, затем, на 14-е сут, снова вырос в 5,3 раза.

В дальнейшем мы осуществили сравнение уровней экспрессии гена *Lep* в клетках различных органов у исследуемых мышей и в контрольной группе. В контрольной группе мышей db/db с выраженными признаками МС (без введения ККМ) с внутрибрюшинным введением физ. р-ра наблюдается следующая картина, показанная на рис. 4.

Изначальный уровень экспрессии высок только в клетках печени, после введения препарата он снижается уже на 3-и сут. Подобное снижение активности гена мы наблюдаем и в клетках мозга. В клетках же поджелудочной железы, наоборот, на 3-и и 8-е сут мы наблюдаем увеличение экспрессии, а к концу эксперимента, на 14-е сутки, — напротив, резкое снижение по сравнению с началом опыта (табл. 3).

Таблица 3. Уровень экспрессии гена Lep в клетках различных органов у мышей контрольной группы (количество копий кДНК в пробе)

Table 3. Levels of the Lep gene expression in cells of various organs in mice of the control group (the number of cDNA copies in a sample)

Период	Поджелудочная железа	Головной мозг	Печень
До введения	8912509	132396041	621942163
3-и сут	54638654 (↑ в 6 раз)	103663292 (↓ в 1,2 раза)	135285110 (↓ в 4,5 раза)
8-е сут	50845202	13823722 (↓ еще в 7,5 раза)	29639781 (↓ еще в 4,5 раза)
14-е сут	1528886 (↓ в 5,8 раз по сравнению с экспрессией до введения)	14537843 (↓ в 9 раз по сравнению с экспрессией до введения)	

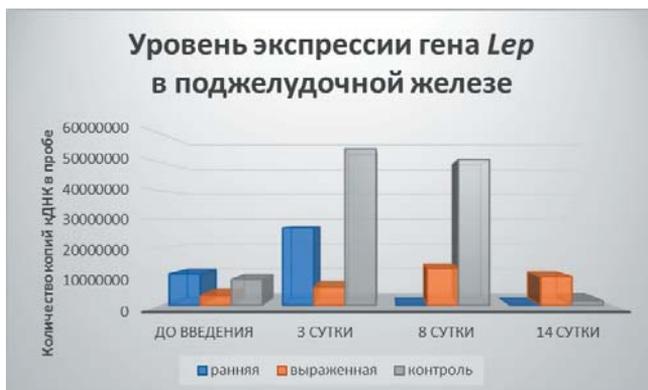


Рис. 1. Корреляция экспрессии гена *Lep* в клетках поджелудочной железы от времени взятия проб у мышей линии *db/db* на разных стадиях МС.

Fig. 1. Correlation of the *Lep* gene expression in pancreatic cells depending on the time of sampling in *db/db* mice at different MS stages.

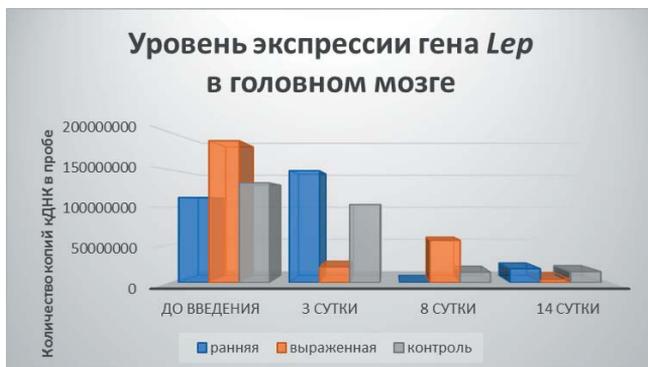


Рис. 2. Корреляция экспрессии гена *Lep* в клетках головного мозга от времени взятия проб у мышей линии *db/db* на разных стадиях МС.

Fig. 2. Correlation of the *Lep* gene expression in brain cells depending on the time of sampling in *db/db* mice at different MS stages.



Рис. 3. Корреляция экспрессии гена *Lep* в клетках печени от времени взятия проб у мышей линии *db/db* на разных стадиях МС.

Fig. 3. Correlation of the *Lep* gene expression in liver cells depending on the time of sampling in *db/db* mice at different MS stages.

У мышей на ранней стадии развития МС, к сожалению, не удалось получить экспериментальные данные на 8-е и 14-е сут в клетках поджелудочной железы, а также на 8-е сут в клетках мозга. Тем не менее картина отличается от таковой в контрольной группе, и мы можем наблюдать схожую тенденцию роста активности исследуемого гена после введения препарата (на 3-и сут), а также снижение этой активности к концу эксперимента (на 14-е сут), причем экспрессия гена ниже, чем до введения препарата (рис. 5, табл. 4).

Полученные результаты по клеткам печени иллюстрируют, что после 3-х сут в какой-то момент ген перестает активно работать, уровень экспрессии сильно снижается: уже на 8-е сут ген «работает» в 6,5 раза менее активно, чем до начала

эксперимента. Анализируя, можно предположить аналогичное развитие событий в клетках поджелудочной железы и мозга.

У мышей db/db на выраженной стадии развития МС уровень экспрессии гена *Lep* во всех исследуемых органах нестабилен и изменяется резко и независимо от клеток др. органов (рис. 6).

Такую динамику активности можно связать с несбалансированным обменом веществ и большим количеством патологических процессов, присутствующих на выраженной стадии заболевания (табл. 5).

Наблюдается наибольшее снижение уровня экспрессии гена *Lep* в клетках головного мозга до введения стволовых клеток, на 14-е сут активность гена снижается в 45 раз.

Таблица 4. Уровень экспрессии гена *Lep* в клетках различных органов у мышей на ранней стадии заболевания (количество копий кДНК в пробе)

Table 4. Levels of the *Lep* gene expression in cells of various organs in mice at an early MS stage (the number of cDNA copies in a sample)

Период	Поджелудочная железа	Головной мозг	Печень
До введения	10901844	113012114	131446794
3-и сут	26992928 (↑ в 2,5 раза)	148555080 (↑ в 1,3 раза)	171543789 (↑ в 1,3 раза)
8-и сут		Нет данных	20040929 (↓ в 6,5 раза по сравнению с экспрессией до введения)
14-е сут	Нет данных	18302061 (↓ в 6 раз по сравнению с экспрессией до введения)	90416980 (↓ в 1,5 раза по сравнению с экспрессией до введения)

Таблица 5. Уровень экспрессии гена *Lep* в клетках различных органов у мышей на выраженной стадии заболевания (количество копий кДНК в пробе)

Table 5. Levels of the *Lep* gene expression in cells of various organs in mice at an advanced MS stage (the number of cDNA copies in a sample)

Период	Поджелудочная железа	Головной мозг	Печень
До введения	3301794	188364908	107151930
3-и сут	6174829 (↑ в 2 раза)	20832912 (↓ в 9 раз)	59566214 (↓ в 1,8 раза)
8-е сут	12863969 (↑ еще в 2 раза)	56234132 (↑ в 2,7 раза по сравнению с 3-ми сут)	30505278 (↓ еще в 2 раза)
14-е сут	9928302 (↓ в 1,3 раза по сравнению с 8-ми сут и ↑ в 3 раза по сравнению с экспрессией до введения)	4186730 (↓ в 13,5 раза по сравнению в 8-ми сут и ↓ в 45 раз по сравнению с экспрессией до введения)	164295247 (↑ в 5,4 раза по сравнению в 8-ми сут и ↑ в 1,5 раза по сравнению с экспрессией до введения)

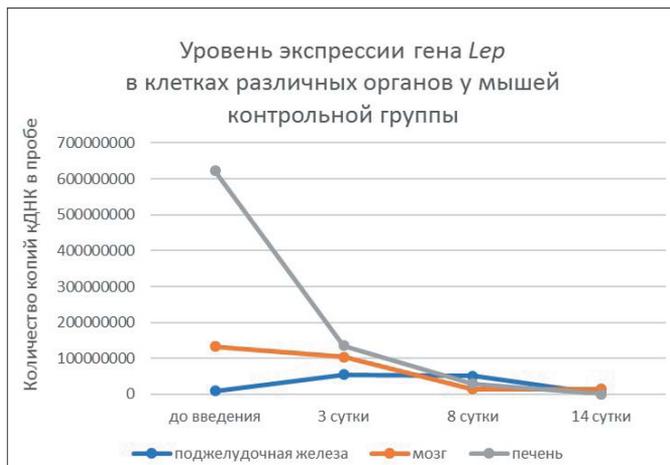


Рис. 4. Сравнение уровней экспрессии гена *Lep* в клетках различных органов от времени взятия проб у мышей контрольной группы (без ККМ) линии *db/db*.

Fig. 4. Comparison of the *Lep* gene expression levels in cells of various organs depending on the time of sampling in mice of the control group (without BMC) of the *db/db* line.



Рис. 5. Сравнение уровней экспрессии гена *Lep* в клетках различных органов от времени взятия проб у мышей линии *db/db* на ранней стадии МС.

Fig. 5. Comparison of the *Lep* gene expression levels in cells of various organs depending on the time of sampling in *db/db* mice at an early MS stage.

Заключение

Содержание лептина в общей циркуляции крови коррелирует с массой тела: чем больше масса жировой ткани, тем больше она секретирует гормона в кровяное русло. Подобное явление позволяет назвать жировую ткань эндокринным органом, гуморально регулирующим свое собственное состояние. Уменьшение количества жировой

ткани влияет на уровень лептина: снижение массы тела на 10% приводит к снижению концентрации лептина на 53%. Напротив, увеличение массы на 10% сопровождается увеличением содержания сывороточного лептина втрое [6].

Именно снижение концентрации сывороточного лептина в результате болезни или радикальных диет «запускает» компен-

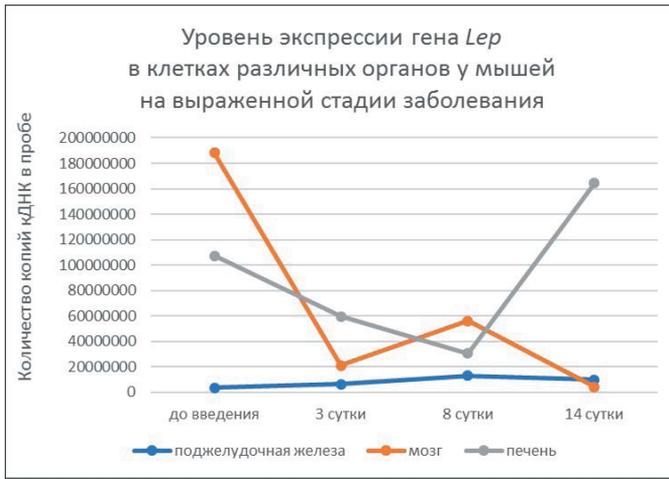


Рис. 6. Сравнение уровней экспрессии гена *Lep* в клетках различных органов от времени взятия проб у мышей линии *db/db* на выраженной стадии МС.

Fig. 6. Comparison of the *Lep* gene expression levels in cells of various organs depending on the time of sampling in *db/db* mice at an advanced MS stage.

саторный механизм, подавляющий термогенез и увеличивающий потребление пищи до тех пор, пока не будет достигнут уровень лептина, являющийся нормой для данного организма. Поэтому считается, что ожирение является состоянием лептинорезистентности.

По некоторым данным, уровень лептина является фактором риска ишемической болезни сердца умеренной силы и коррелирует с показателями общего холестерина и триглицеридов. В последнее время обсуждается новая теория патогенеза артериальной гипертензии при ожирении, связанная с гиперлептинемией у таких пациентов, что подтверждается нашими исследованиями.

Анализируя результаты, полученные у мышей на ранней и выраженной стадии МС, заметно, что уровень экспрессии в тканях печени и головного мозга значительно выше, чем в поджелудочной железе, что обусловлено реально более высоким содержанием адипоцитов (жировых клеток) в этих органах. Нами продемонстрировано, что на ранней стадии развития МС (3-и сут) после введения препарата стволовых клеток наблюдается более высокий уровень

лептина, что, возможно, обусловлено влиянием препарата на корректировку обменного процесса в сторону нормализации. Т. е. высокий уровень лептина, влияя на гипоталамус, снижает чувство голода, а накопленный жир сжигается.

В нашем случае у больных животных возникает толерантность организма к лептину: приводит к понижению уровня лептина, несмотря на большое количество жировой ткани, но организм при этом никак не реагирует и продолжает накапливать жировую ткань. При введении ККМ, по-видимому, происходит корректировка обменных процессов и лептина в сторону нормализации.

На выраженной стадии развития МС у животных наблюдается обратная связь: уровень лептина растет в печени и головном мозге из-за высокого содержания жировой ткани, а ККМ перестают оказывать нормализующее действие.

Результаты гистологических исследований тканей печени и поджелудочной железы у всех групп животных не показали характерных структурных и функциональных изменений при введении фракции

ККМ. Возможно, эти изменения могут проявляться при иных условиях проведения эксперимента.

Для полной картины гистологических изменений будут выполнены исследования с более длительным сроком наблюдения и сбора информации.

По-видимому, ген лептина *Lepr* можно считать одним из реперных генов, полноценным регулятором обменных процессов, за счет своего влияния на гипоталамус, который,

в свою очередь, совместно с гиппокампом, контролирует продукцию ацетилхолина и инсулина в мозге [11, 12].

Выбранная линия лабораторных мышей *V/Ks-Lepr^{db/+}* (*db/db*) является адекватной биомоделью для изучения и описания метаболического синдрома, оптимизированная ПЦР-система может быть использована для оценки степени возможного терапевтического воздействия на организм лабораторного животного в доклинической практике.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Беляева О.Д., Баженова Е.А., Березина А.В. и др. Уровень лептина и Q223R полиморфизм гена рецептора лептина у пациентов с абдоминальным ожирением. *Проблемы женского здоровья*. 2010;5(2):28–34. [Belyaeva O.D., Bazhenova E.A., Berezina A.V., et al. Uroven' leptina i Q223R polimorfizm gena receptora leptina u pacientov s abdominal'nyum ozhireniem [Leptin level and Q223R polymorphism of the leptin receptor gene in patients with abdominal obesity]. *Problemy zhenskogo zdorov'ya [Problems of Women's Health]*. 2010;5(2):28–34. (In Russian)].
2. Бондарева Э.А., Шиян В.В., Спицын В.А. и др. Ассоциации четырех полиморфных генетических систем (ACE, EPAS1, ACTN3 и NOS3) со спортивной успешностью в борьбе самбо. *Вестник Московского университета. Серия XXIII. Антропология*. 2010;1:36–45. [Bondareva E.A., Shiyan V.V., Spicyn V.A., et al. Assotsiatsii chetyrekh polimorfnykh genicheskikh sistem (ASE, EPAS1, ACTN3 i NOS3) so sportivnoy uspešnost'yu v bor'be sambo [Associations of four polymorphic genetic systems (ACE, EPAS1, ACTN3 and NOS3) with sporting success in sambo wrestling]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya XXIII. Antropologiya [Moscow University Physics Bulletin. Series XXIII. Anthropology]*. 2010;1:36–45. (In Russian)].
3. Завьялова Л.Г., Денисова Д.В., Симонова Г.И. и др. Генетические детерминанты атеросклероза, локализованные в первой хромосоме человека. *Актуальные проблемы современной науки: материалы Восьмой международной телеконференции*. 2012;1(2):47–53. [Zav'yalova L.G., Denisova D.V., Simonova G.I., et al. Genicheskije determinanty aterosklerozha, lokalizovannye v pervoj hromosome cheloveka [Genetic determinants of atherosclerosis localized in the first chromosome of a person]. *Aktual'nye problemy sovremennoj nauki: mat-ly Vos'moj mezhdunarodnoj telekonferencii [Actual problems of modern science: materials of the Eighth International Teleconference]*, 2012;1(2):47–53. (In Russian)].
4. Климова Т.М., Федорова В.И., Балтахинова М.Е. Критерии ожирения для идентификации метаболических факторов риска у коренного сельского населения Якутии. *Сибирский медицинский журнал*. 2012;8:110–113. [Klimova T.M., Fedorova V.I., Baltakhinova M.E. Kriterii ozhireniya dlya identifikatsii metabolicheskikh faktorov riska u korennoho sel'skogo naseleeniya Yakutii [Obesity criteria for identifying metabolic risk factors in the indigenous rural population of Yakutia]. *Siberian Medical J.* 2012;8:110–113. (In Russian)].
5. Сеницын П.А. *Метаболический синдром у детей и подростков. Клинико-генетические параллели: автореф. дисс. ... канд. мед. наук*. М., 2009. 27 с. [Sinityn P.A. *Metabolicheskij sindrom u detej i podrostkov. Kliniko-genicheskije paralleli: avtoref. diss. ... kand. med. nauk [Metabolic syndrome in children and adolescents. Clinical and genetic parallels: abstract of dissertation ... Cand. Sci. (Med.)]*. Moscow, 2009. 27 p. (In Russian)].
6. Тыртова Л.В., Паршина Н.В., Скобелева К.В. Генетические и эпигенетические аспекты ожирения и метаболического синдрома, возможности профилактики в детском возрасте. *Педиатрия*. 2013;IV(2):3–11. [Tyrtova L.V., Parshina N.V., Skobeleva K.V. Genicheskije i epigenicheskije aspekty ozhireniya i metabolicheskogo sindroma, vozmozhnosti profilaktiki v detskom vozraste [Genetic and epigenetic aspects of obesity and metabolic syndrome, the possibility of prevention in childhood]. *Pediatrics*. 2013;IV(2):3–11. (In Russian)].
7. Byrne C.D., Wareham N.J., Martensz N.D., et al. Increased PAI activity and PAI-1 occurring with an oral fat load: associations with PAI-1 genotype and plasma active TGF-B levels. *Atherosclerosis*. 1998;140:45–53.
8. Dickie M.M., Lane P.W. Mapping of the ob locus. *Mouse News Lett.* 1957;17:52.
9. Kolaczynski J., Ohannesian J., Considine R., et al. Response of leptin to short-term and prolonged overfeeding in humans. *J. Clin. Endo. Metab.* 1996;81(11):4162–4165.

10. Kubaszek A., Pihlajamaki J., Komarovski V., et al. Promoter polymorphisms of the TNF- α (G-308A) and IL-6 (C-174G) genes predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes. The Finnish Diabetes prevention study. *Diabetes (New-York)*. 2003;52:1872–1876.
11. Persiyantseva N.A., Storozhevykh T.P., Senilova Y.E., Gorbacheva L.R., Pinelis V.G., Pomytkin I.A. Mitochondrial H₂O₂ as an enable signal for triggering autophosphorylation of insulin receptor in neurons. *J. Mol. Signal.* 2013;8(1):11. DOI: 10.1186/1750-2187-8-11.
12. Pomytkin I., Costa-Nunes J.P., Kasatkin V., Veniaminova E., Demchenko A., Lyundup A., et al. Insulin receptor in the brain: Mechanisms of activation and the role in the CNS pathology and treatment. *CNS Neurosci. Ther.* 2018. DOI: 10.1111/cns.12866.
13. Rankinen T., Zuberi A., Chagnon Y., et al. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14:529–644.
14. Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J.M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;352:425–432.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ | INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Петрова Наталья Владимировна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;
e-mail: m-sklad@yandex.ru

Nataliya V. Petrova, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: m-sklad@yandex.ru

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-23-32>



СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПСИХОАКТИВНЫХ СРЕДСТВ НА ГИППОКАМПАЛЬНЫЕ ТЕТА- И ГАММА-РИТМЫ

Ю. В. Фокин

*ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства России»
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, владение 1*

Работа проведена на кошках со стереотаксически имплантированными в разные отделы мозга электродами. Изучено влияние мелатонина, атомoksetина и хлорпромазина на разные по филогенетической организации структуры коры головного мозга, особое внимание отведено гиппокампу.

Выполнялись нормализация и нормирование БПФ-преобразованных электрограмм мозга под влиянием тестируемых средств, обладающих активирующим и депримирующим действием, регистрируемым по основным фармакокинетическим точкам. Несмотря на разные нейрохимические и клинико-фармакологические аспекты исследованных психоактивных средств, их эффекты наиболее ярко прослеживаются на ЭГМ по активности гиппокампальных θ - и γ -ритмов, отражающих мезолимбические механизмы. Они характеризуются однозначностью действия в течение всего периода влияния, совпадающего с данными фармакодинамики и фармакокинетики.

Данные эффекты отражают действие на фундаментальные механизмы мозга, проявляющиеся в т. ч. в преобразовании интрацентральных отношений и формировании когнитивных функций.

Ключевые слова: нейровизуализация, нормирование, кошки, электроды, электрограммы головного мозга (ЭГМ), нормализованная ЭГМ (НЭМ), быстрое преобразование Фурье (БПФ), гиппокамп, когнитивные функции

Конфликт интересов: автор заявил об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности: Автор выражает искреннюю благодарность и признательность научному руководителю НЦБМТ ФМБА России, чл.-корр. РАН, acad. РАН, д. м. н., проф. Николаю Николаевичу Каркищенко за научно-консультативную методическую помощь, оказанную при подготовке статьи.

Для цитирования: Фокин Ю.В. Сравнительная оценка влияния психоактивных средств на гиппокампальные тета- и гамма-ритмы. *Биомедицина*. 2019;15(3):23–32. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-23-32>

Поступила 31.03.2019

Принята после доработки 08.08.2019

Опубликована 10.09.2019

COMPARATIVE EVALUATION OF THE EFFECT OF PSYCHOACTIVE MEDICINES ON HIPPOCAMPAL THETA AND GAMMA RHYTHMS

Yuriy V. Fokin

*Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow region, Krasnogorsk district, Svetlye gory village, building 1*

The work was performed on cats with electrodes stereotactically implanted in various parts of the brain. The effect of melatonin, atomoxetine and chlorpromazine on cerebral cortex structures with different phylogenetic organization and on the hippocampus in particular was studied.

A normalization of FFT-transformed brain electrograms was conducted. The electrograms were recorded under the influence of the agents under study, which exhibit an activating and depressing effect recorded by the main pharmacokinetic points. Although the psychoactive agents demonstrate different neurochemical and clinical-pharmacological properties, their effects are most clearly seen on brain electrograms by the activity of hippocampal θ and γ rhythms that reflect mesolimbic mechanisms. These mechanisms are characterized by uniqueness of action during the entire period of influence, which coincides with the pharmacodynamic and pharmacokinetic data.

These manifestations reflect the effect of the studied psychoactive agents on the fundamental mechanisms of the brain consisting, e.g., in the transformation of intracenter relations and the formation of cognitive functions.

Keywords: neuroimaging, normalization, cats, electrodes, brain electrograms, normalized brain electrograms, fast Fourier transform, hippocampus, cognitive functions

Conflict of interest: the author declares no conflict of interest.

Acknowledgements: The author expresses his sincere gratitude and appreciation to Nikolay Nikolayevich Karkischenko, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Rocket and Artillery Sciences, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, for his methodological guidance in the preparation of this article for publication.

For citation: Fokin Yu.V. Comparative Evaluation of the Effect of Psychoactive Medicines on Hippocampal Theta and Gamma Rhythms. *Journal Biomed.* 2019;15(3):23–32. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-23-32>

Submitted 31.03.2019

Revised 08.08.2019

Published 10.09.2019

Введение

Высокочастотная электрическая активность мозга в диапазоне 30–100 Гц, известная как γ -осцилляции, или γ -ритм, наблюдается во многих областях мозга. Высокочастотные осцилляции обеспечивают синхронизацию активности локальных нейронных сетей, которые обрабатывают, передают, хранят и получают информацию в гиппокампе и коре головного мозга. Соответственно, существует связь γ -ритмов и процессов высшей нервной деятельности, таких как внимание, сенсорное восприятие и формирование памяти. Ключевую роль в генерации γ -осцилляций, как полагают, играет циклическое торможение, опосредуемое рецепторами γ -аминомасляной кислоты [8].

Роль гиппокампа в генерации θ -и γ -ритмов. Гиппокамп является структурой мозга, необходимой для запоминания новой осознанной информации. Взаимосвязи меж-

ду гиппокампом, стволом мозга и др. лимбическими корковыми областями играют важнейшую роль в формировании памятного следа. Гиппокамп осуществляет генерацию гиппокампального θ -ритма. Эта активность рассматривается как показатель фильтрации и обработки поступающих в мозг сигналов, как коррелят селективного внимания, являющегося необходимым начальным этапом обучения и памяти [10]. Гиппокамп в то же время является одной из наиболее уязвимых областей мозга, где могут возникать очаги патологической активности, в т.ч. эпилептической. Судорожная активность нарушает функции мозга — в первую очередь, способность запоминания, хранения и воспроизведения информации. Основным источником γ -осцилляций в гиппокампе является область вставочных нейронов (интернейронов) СА3. Исследование высокочастотных осцилляций в мозге имеет важное значение, т.к. их нарушение сопровождается ряд забо-

леваний ЦНС, неполный список которых включает болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, эпилепсию, шизофрению и депрессию [11–14].

Фармакологическая коррекция интрацентральных отношений с помощью нейропсихоактивных средств и анализ получаемых данных посредством новых технологий детекции и распознавания может иметь большое значение для исследований сложных преобразований ЭГ мозга, прогнозирования психоактивных свойств биологически активных соединений и их комбинаций [3], что позволяет проводить качественный анализ и расширять методологию биомедицинских и доклинических исследований.

При действии психоактивных средств особый интерес для нас представляли реакции электрограмм головного мозга (ЭГМ) в низкочастотной и высокочастотной области θ - и γ -ритмов соответственно, основываясь на том, что γ -ритм связан с сознанием и когнитивными функциями, а θ -волны связывают сознание и подсознание, усиливаются в спокойном и умиротворенном состоянии и снижаются при стрессе, отвечают за концентрацию внимания и поведение [1].

Целью работы явилась сравнительная оценка эффектов разных групп психоактивных средств на генерацию биопотенциалов гиппокампа с др. структурами коры головного мозга посредством нормализации электрограмм мозга кошек, ее корреляция с эмоциональным статусом и когнитивными функциями животных.

Материалы и методы

Объектами исследований явились взрослые кошки обоего пола в возрасте более 3 лет, не имеющие признаков чистопородности, массой тела 4–6 кг.

Кормление, содержание, карантин и обращение с животными подробно описаны в наших предыдущих работах по данной тематике [6, 7, 9].

Вживление электродов в головной мозг животных производилось стереотаксическим путем в виде разработанных электродных конструкций [6, 7].

Регистрация и анализ параметров электрограмм осуществлялись с помощью разработанных в НЦБМТ ФМБА России инновационных технических средств и программного обеспечения (микромодуль) [6, 7].

Выбор квазистационарных участков ЭГМ, алгоритмы нормирования данных ЭГМ и блок-схема используемого технического устройства представлены в работе [4].

Нейровизуализация параметров ЭГМ

Нормирование осуществлялось согласно предложенному акад. Н. Н. Каркищенко и описанному в работе [4] методу сравнительного анализа, обозначенному нами как **НЭМ**, в основе которого лежит оценка изменений в частотной области спектра снятых ЭГ до воздействия исследуемых факторов (фоновые данные) и после преобразованных быстрым преобразованием Фурье (БПФ). Метод позволяет увидеть возбуждение или депрессию активности исследуемых областей мозга в определенных ЭГ-ритмах.

Получаемые данные представлены на трех графиках, нанесенных на круговую векторную диаграмму и отражающих средние значения:

- 1) фоновых измерений — синие линии;
- 2) воздействия (экспериментальных данных) — красные линии;
- 3) НЭМ нормированных данных (десятичный логарифм) — желтые линии.

На диаграмме отмечены:

- цифровое кодирование — частоты ЭГ (1–64 Гц);
- спектральные характеристики ЭГ (круговые сектора) — от 0 (внутренний сектор) до $\lg 10^n$ (внешний сектор);
- базисная линия нормирования — нами принята за единицу. Расположение кри-

вой НЭМ внутри (ближе к внутреннему сектору диаграммы) свидетельствует о снижении мощности частот ЭГ при воздействии по сравнению с фоновыми данными, расположение снаружи (ближе к внешнему сектору) — о повышении мощности частот ЭГ по сравнению с фоном.

На диаграммах указаны все частоты ЭГ анализируемого диапазона, и для удобства восприятия материала специалистами, привыкшими к традиционной форме интерпретации ЭГ, мы разграничили частоты согласно принятой классификации на дельта — δ (1–4 Гц), тета — θ (5–8 Гц), альфа — α (9–12 Гц), сигма — σ (13–16 Гц), бета — β (17–30 Гц) и гамма — γ (31–64 Гц) — диапазоны, хотя имеются и др. представления о границах диапазонов.

Анализ эффектов нейрпсихотропных средств

Выбор тестируемых средств был основан на визуализации различных механизмов действия ярких представителей некоторых фармакологических групп лекарственных препаратов. Ранее в публикациях Н. Н. Каркищенко было исследовано и установлено их влияние на интрацентральные отношения головного мозга, отражающие системное фармакологическое действие [2, 3]. В работе применялись:

Мелатонин («Мелаксен», США) — основной гормон эпифиза, регулятор циркадного ритма, блокатор гистаминовых H_1 -рецепторов. Оказывает седативное и адаптогенное действие, нормализует физиологический сон и биологические ритмы, снижает стрессовые реакции. Повышает содержание ГАМК в ЦНС и серотонина в среднем мозге и гипоталамусе.

Атомоксетин («Стратера», Пуэрто-Рико) — симпатомиметик центрального действия, высокоселективный мощный ингибитор обратного захвата норадреналина с минимальным сродством к др. норадренергическим рецепторам. Нормализует

дефицит внимания и гиперактивность животных и человека, не относится к психостимуляторам.

Хлорпромазин («Аминазин», Россия) — антипсихотическое средство (неспецифический нейролептик) из группы производных фенотиазина. Оказывает выраженное антипсихотическое, седативное, противорвотное действие. Ослабляет или полностью устраняет бред и галлюцинации, купирует психомоторное возбуждение, уменьшает аффективные реакции, тревогу, беспокойство, понижает двигательную активность. Блокатор постсинаптических допаминергических и α_1 -адренорецепторов в мезолимбических структурах головного мозга. Подавляет высвобождение гормонов гипофиза и гипоталамуса, увеличивает секрецию гипофизом пролактина, оказывает экстрапирамидное действие.

Выбор препаратов основан на том, что хлорпромазин является наиболее мощным допамино-, адреноблокатором и нейролептиком, в противопоставление ему использован симпатомиметик атомоксетин и химический аналог гормона мелатонина, обладающий антигистаминовыми свойствами, которые являются регуляторами возбудимости головного мозга.

Все указанные препараты применялись в малых дозах, эквивалентных массе тела кошек. Поскольку изменения ритмических характеристик связаны в т. ч. со временем влияния на активность мозга и ВНД, мы сочли необходимым сопоставить временные изменения с фармакокинетическими параметрами тестируемых средств, при этом учитывались и их фармакодинамические показатели. На графиках представлены наиболее характерные результаты по обозначенным реперным точкам.

Результаты и их обсуждение

Посредством регистрации и анализа ЭГ определены информативные параметры, свидетельствующие об изменении биоэ-

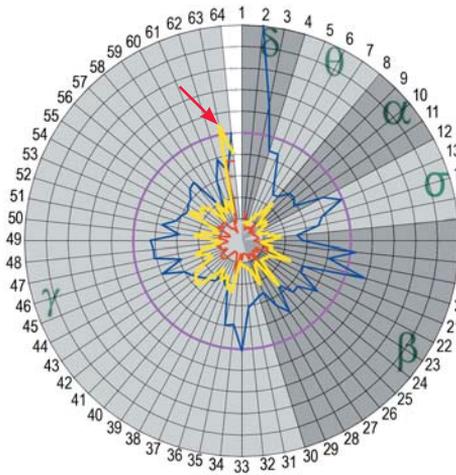


Рис. 1. Параметры ЭГМ и НЭМ через 1 ч после введения мелатонина в области GC — Gyrus cingule — поясная извилина («старая» кора).

Синяя кривая — фоновые измерения, красная кривая — воздействие, желтая кривая — НЭМ. Розовый контур — базисная линия нормирования. Цифровое кодирование — частоты, Гц. Круговые сектора — спектральные характеристики ЭГМ. Красные стрелки — самые яркие эффекты, заслуживающие внимания.

Fig. 1. BE and NBE parameters 1 h after the administration of melatonin in the GC brain area — Gyrus cingule — the cingulate gyrus (“old” cortex).

The blue curve is background measurements, the red curve is impact, the yellow curve is NBE. The pink contour is the basic line of valuation. Digital coding on the perimeter is the frequency, Hz. Circular sectors are the spectral characteristics of BE. Red arrows are the most striking effects that deserve attention.

лектрической активности мозга при действии тестируемых нейрпсихотропных средств.

Результаты влияния мелатонина на параметры ЭГМ и НЭМ представлены на рис. 1–3.

Приблизительно через 1 ч после введения тестируемого препарата на ЭГ наблюдается его пиковое действие как блокатора гистаминовых H_1 -рецепторов в виде преимущественной депримации ритмов. Однако при этом можно проследить выраженные всплески в частотных диапазонах 40–42, 50–56 и 60–63 Гц, которые по ранее принятой классификации относятся к высокому γ -диапазону. Помимо этого, прослежива-

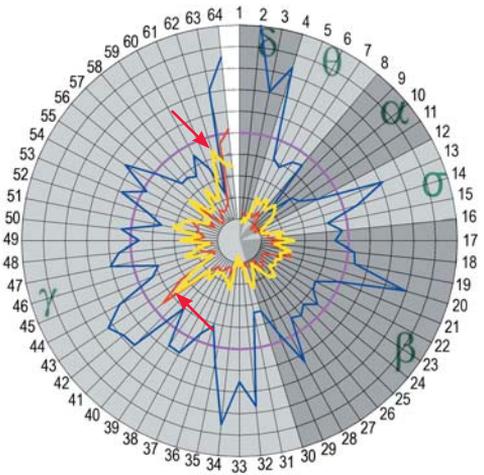


Рис. 2. Параметры ЭГМ и НЭМ через 1 ч после введения мелатонина в области GSSA — Gyrus suprasylvius anterior — передняя супрасильвиева извилина («новая» кора). Все обозначения — как на рис. 1.

Fig. 2. BE and NBE parameters 1 h after the administration of melatonin in the GSSA brain area — Gyrus suprasylvius anterior — the front suprasilviev gyrus (“new” cortex). For all designations, refer to Fig. 1.

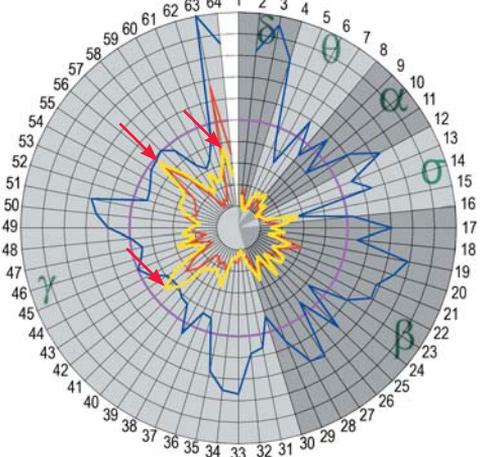


Рис. 3. Параметры ЭГМ и НЭМ через 1 ч после введения мелатонина в области HIP — Hippocampus — гиппокамп («древняя» кора). Все обозначения — как на рис. 1.

Fig. 3. BE and NBE parameters 1 h after the administration of melatonin in the HIP brain area — Hippocampus — the hippocampus (“ancient” cortex). For all designations, refer to Fig. 1.

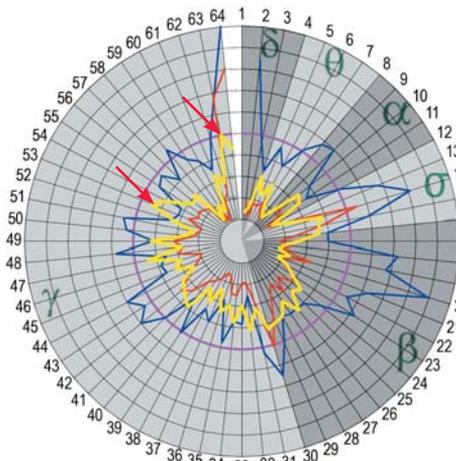


Рис. 4. Параметры ЭГМ и НЭМ через 6 ч после введения атомоксетина в области GC. Все обозначения — как на рис. 1.
Fig. 4. BE and NBE parameters 6 h after the administration of atomoxetine in the GC brain area. For all designations, refer to Fig. 1.

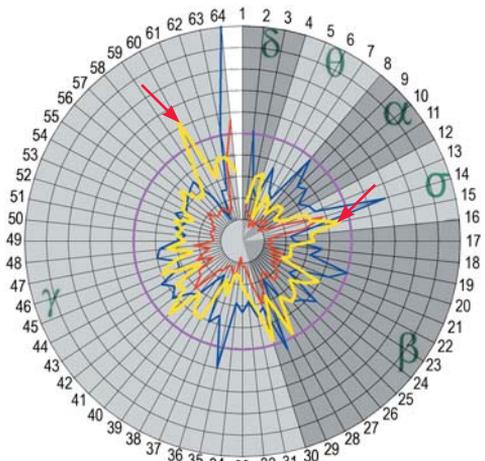


Рис. 5. Параметры ЭГМ и НЭМ через 6 ч после введения атомоксетина в области GSSA. Все обозначения — как на рис. 1.
Fig. 5. BE and NBE parameters 6 h after the administration of atomoxetine in the GSSA brain area. For all designations, refer to Fig. 1.

ются некоторые всплески в σ -диапазоне (сонные веретена). Данные эффекты наблюдаются уже примерно через 30 мин после введения и сохраняются на протяжении 4–6 ч. При этом наиболее значимы они в области гиппокампа (резкое повышение приблизительно на 80–100 % от исходной спектральной мощности) и поясной извилины (около 80 %). Также прослеживаются элементы угнетения α -ритма (9–12 Гц), примерно на 30–40 %.

Спустя сутки после введения регистрируемая НЭМ на всей анализируемой области ритмов соответствует фоновым значениям до эксперимента.

Таким образом, депримирующее, угнетающее действие мелатонина проявляется примерно через полчаса после введения, чему способствует его легкое проникновение через ГЭБ, и что согласуется с фармакокинетическими параметрами. При этом эффект достаточно длительный (несколько часов), в связи с чем препарат используется для нормализации сна и биоритмов, а также при стрессах.

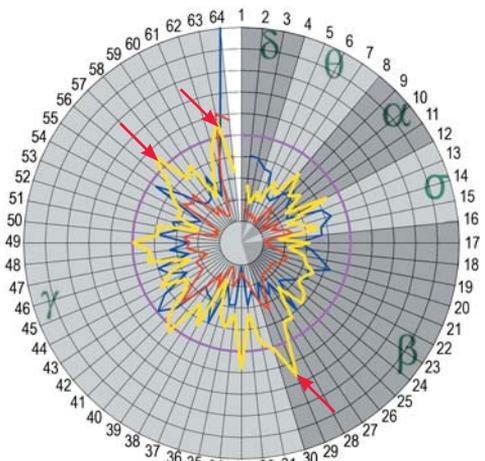


Рис. 6. Параметры ЭГМ и НЭМ через 6 ч после введения атомоксетина в области HIP. Все обозначения — как на рис. 1.
Fig. 6. BE and NBE parameters 6 h after the administration of atomoxetine in the HIP brain area. For all designations, refer to Fig. 1.

Результаты влияния атомоксетина на параметры ЭГМ и НЭМ представлены на рис. 4–6.

Выраженное депримирующее действие препарата как симпатомиметика и ингибитора обратного захвата норадреналина регистрируется приблизительно через 6 ч после введения: НЭМ отражает угнетение исследуемых областей мозга, при котором регистрируются отчетливые всплески во многих высокочастотных диапазонах: 26–30, 46–48, 52–57, 60–63 Гц, традиционно относящихся к γ -диапазону. В области около 30 и 60 Гц гиппокампа и «новой» коры эти пики составляют около 80% от исходного уровня и выходят в зону активации. При этом θ -ритм в области гиппокампа и передней супрасильвиевой извилины значительно угнетен, возрастание НЭМ наблюдается только к α -диапазону. А также прослеживаются некоторые всплески в σ -диапазоне (сонные веретена).

Спустя 24 ч после введения общая картина ЭГМ не восстанавливается до исходных значений.

Успокаивающее действие атомоксетина, связанное с нормализацией гиперактивности без психостимулирующего эффекта, проявляется через несколько часов после введения и регистрируется как минимум до 24 ч.

В исследовании, проведенном нами ранее на крысах, целью которого были анализ свободного поведения и ультразвуковой вокализации при действии атомоксетина, также установлено, что он обладает анксиолитическими свойствами с седативным компонентом: наблюдался общий подъем спектральной мощности полосы издаваемого ультразвука 15–37 кГц (наиболее ярко — через 6 ч), достоверное повышение времени неподвижности животных и уменьшение горизонтальной и вертикальной активности в общей картине поведения [5].

Таким образом, известные фармакокинетические свойства и необходимость курсо-

вого приема препарата согласуются с полученными в работе данными.

Результаты влияния хлорпромазина на параметры ЭГМ и НЭМ представлены на рис. 7–9.

Показано, что введение хлорпромазина в малых терапевтических дозах оказывает возбуждающее действие, которое прослеживается уже через 30 мин после введения и сохраняется на протяжении 6 ч. Пик действия обнаруживается приблизительно через 4 ч после введения. При этом на частотах 6 Гц (θ -ритм), 37, 52 и 62 Гц (γ -ритм) регистрируются существенные «завалы» НЭМ (резкое снижение на 100–150% от исходной спектральной мощности), сохраняющиеся в течение 24 ч наблюдения.

Длительное возбуждение гиппокампа и др. отделов коры, характеризующее активизирующие эффекты хлорпромазина в исследуемой дозе, связано, по всей видимости, с его адреноблокирующим действием на мезолимбические структуры головного мозга.

Эмоциональный статус и когнитивные функции мелких лабораторных животных принято оценивать в т. ч. по числу болюсов, уриаций, груминговой активности и длительности замирания, выходов из центральной в периферическую часть различных лабиринтов и установок по типу «открытого поля» и т. д. Помимо этого, информативные данные о психоэмоциональном состоянии животных могут быть получены путем измерения их вокализации, существенная часть которой представлена в ультразвуковом диапазоне [4].

Все эти показатели изменяются при действии физических и зоосоциальных факторов, введении в организм различных фармакологических препаратов.

Несмотря на разные нейрохимические механизмы и разнонаправленность по клинико-фармакологическому действию, исследованные средства имеют общие черты

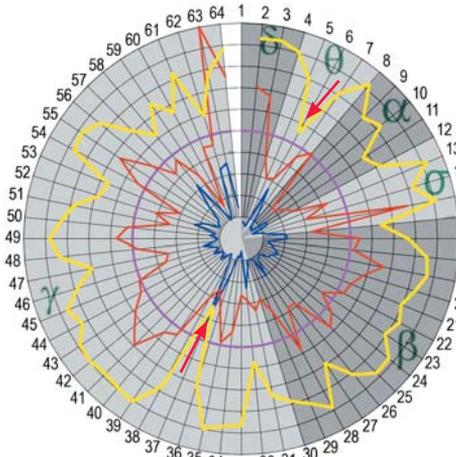


Рис. 7. Параметры ЭГМ и НЭМ через 4 ч после введения хлорпромазина в области GC. Все обозначения — как на рис. 1.
Fig. 7. BE and NBE parameters 4 h after the administration of chlorpromazine in the GC brain area. For all designations, refer to Fig. 1.

во влиянии на низко- и высокочастотные (θ и γ) ритмы ЭГМ, существенная доля которых гиппокампального происхождения. Данные эффекты отражают действие на фундаментальные механизмы мозга, проявляющиеся в т.ч. в преобразовании интрацентральных отношений и формировании когнитивных функций, взаимосвязанных с активностью γ -ритма.

Заключение

Работа проведена на кошках со стереотаксически имплантированными в разные отделы мозга электродами. Особое внимание отведено изучению влияния тестируемых средств на «древнюю» (гиппокамп), «старую» (поясная извилина) и «новую» (передняя супрасильвиева извилина) кору головного мозга.

Изменения параметров НЭМ, наблюдаемые при воздействии психоактивных средств — мелатонина, атомоксетина, хлорпромазина, информативно и убедительно отражают активность анализируемых участков мозга. Несмотря на разные нейрохимические механизмы и клини-

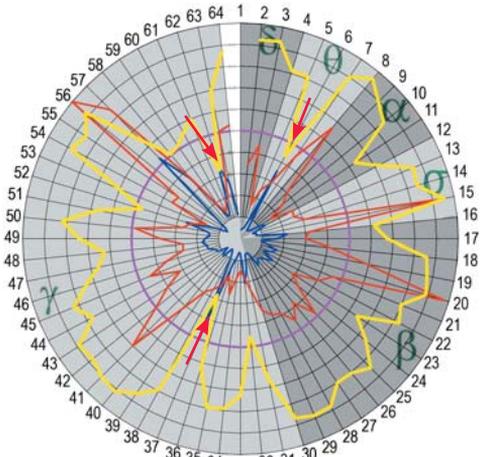


Рис. 8. Параметры ЭГМ и НЭМ через 4 ч после введения хлорпромазина в области GSSA. Все обозначения — как на рис. 1.
Fig. 8. BE and NBE parameters 4 h after the administration of chlorpromazine in the GSSA brain area. For all designations, refer to Fig. 1.

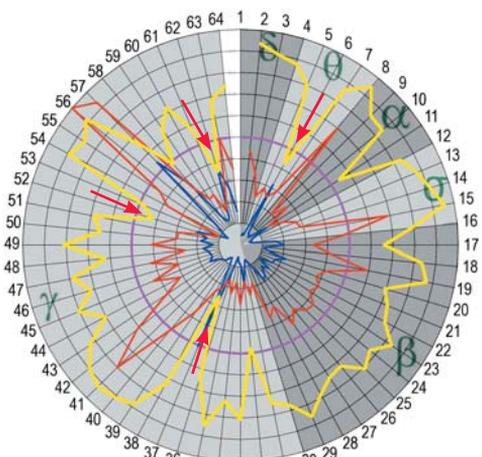


Рис. 9. Параметры ЭГМ и НЭМ через 4 ч после введения хлорпромазина в области HIP. Все обозначения — как на рис. 1.
Fig. 9. BE and NBE parameters 4 h after the administration of chlorpromazine in the HIP brain area. For all designations, refer to Fig. 1.

ко-фармакологические аспекты, действие исследуемых препаратов преимущественно связано с выраженной активностью θ - и γ -ритмов, отражающих мезолимбические в целом и гиппокампальные в частности влияния, а также эффекты др. корковых структур головного мозга. Они стабильно прослеживаются на ЭГМ, отличаясь однонаправленностью действия в течение всего периода влияния, совпадающего с данными фармакодинамики и фармакокинетики.

Данные эффекты отражают действие на фундаментальные механизмы мозга, проявляющиеся в т. ч. в преобразовании интрацентральных отношений и формировании когнитивных функций, взаимосвязанных с активностью γ -ритма.

Имеющиеся сходства и различия с этими областями в общем графике ЭГ могут свидетельствовать об информативности получаемых данных в высоких частотных диапазонах, до настоящего времени слабо изученных.

Сопоставляемость наблюдаемых результатов с известными фармакодинамическими и фармакокинетическими параметрами тестируемых средств, а также высокая степень корреляции с данными по исследованию психоэмоционального состояния и системного поведения позволяют считать анализ ЭГМ с помощью инновационных технологий — нормализации электрограмм мозга (НЭМ) — перспективным методом биомедицинских и доклинических исследований, расширяющим и дополняющим их методологию.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Каркищенко Н.Н. *Альтернативы биомедицины. Т. 2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии*. М.: Изд-во ВПК, 2007. 448 с. [Karkischenko N.N. *Alternativy biomeditsiny. T. 2. Klassika i alternativy farmakotoksikologii* [Alternatives to biomedicine. Vol. 2. Classics and alternatives to pharmacotoxicology]. Moscow: VPK Publ., 2007. 448 p. (In Russian)].
2. Каркищенко Н.Н. *К нейродинамике аминазина: автореф. дисс. ... к.м.н.* Ростов-на-Дону: Изд-во Рост. гос. мед. ин-та, 1968. 18 с. [Karkischenko N.N. *K nejrodinamike aminazina: avtoref. diss. ... k.m.n.* [To the neurodynamics of chlorpromazine: Abstract of the dissertation ... Cand. Sci. (Med.)]. Rostov-on-Don: Rostov State Medical Institute Publ., 1968. 18 p. (In Russian)].
3. Каркищенко Н.Н. *Фармакология системной деятельности мозга*. Ростов: Ростиздат, 1975. 152 с. [Karkischenko N.N. *Farmakologiya sistemnoj deyatelnosti mozga* [Pharmacology of systemic activity of the brain]. Rostov: Rostizdat Publ., 1975. 152 p. (In Russian)].
4. Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Харитонов С.Ю. Нейровизуализация эффектов психоактивных средств посредством нормализации электрограмм головного мозга. *Биомедицина*. 2019;15(1):12–34. [Karkischenko N.N., Karkischenko V.N., Fokin Yu.V., Kharitonov S.Yu. Neirovizualizatsiya effektivov psihoaktivnykh sredstv posredstvom normalizatsii elektrogramm golovnogo mozga [Neuroimaging of the Effects of Psychoactive Substances by Means of Normalization of Brain Electrograms]. *Biomedicine*. 2019;15(1):12–34. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-15-1-12-34.
5. Каркищенко Н.Н., Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н., Сахаров Д.С., Алимкина О.В. Роль нейромедиаторных систем мозга в генерации ультразвуковой вокализации и ее корреляции с поведением животных. *Биомедицина*. 2011;4:8–18. [Karkischenko N.N., Fokin Yu.V., Karkischenko V.N., Sakharov D.S., Alimkina O.V. Rol' nejromediatornykh sistem mozga v generatsii ultrazvukovoy vokalizatsii i eyo korrelyatsii s povedeniem zhivotnykh [The role of brain neurotransmitter systems in the generation of ultrasonic vocalization and its correlation with animal behavior]. *Biomedicine*. 2011;4:8–18. (In Russian)].
6. Каркищенко Н.Н., Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н., Табоякова Л.А., Мокроусов М.И., Алимкина О.В. Конвергентная валидация интрацентральных отношений головного мозга животных. *Биомедицина*. 2017;3:16–39. [Karkischenko N.N., Fokin Yu.V., Karkischenko V.N., Taboyakova L.A., Mokrousov M.I., Alimkina O.V. Konvergentnaya validatsiya intracentral'nykh otnoshenij golovnogo mozga zhivotnykh [Convergent validation of intracentral relationships of the brain of animals]. *Biomedicine*. 2017;3:16–39. (In Russian)].
7. Каркищенко Н.Н., Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н., Табоякова Л.А., Харитонов С.Ю., Алимкина О.В. Новые подходы к оценке интрацентральных отношений по показателям оперантного поведения и электрограмм мозга кошек. *Биомедицина*. 2018;4:4–17. [Karkischenko N.N., Fokin Yu.V., Karkischenko V.N., Taboyakova L.A., Kharitonov S.Yu., Alimkina O.V. Novye podhody k ocenke intracentral'nykh otnoshenij po pokazatelyam operantnogo povedeniya i ehlektrogramm mozga koshek [New ap-

- proaches to the assessment of intracentral relations in terms of operant behavior and electrograms of the cats brain]. *Biomedicine*. 2018;4:4–17. (In Russian)].
8. Помыткин И.А., Каркищенко Н.Н. Метаболический контроль высокочастотных гамма-осцилляций в головном мозге. *Биомедицина*. 2019;15(2):43–53. [Pomytkin I.A., Karkischenko N.N. Metabolicheskij kontrol' vysokochastotnyh gamma-oscillyacij v golovnom mozge [Metabolic control of high frequency gamma oscillations in the brain]. *Biomedicine*. 2019;15(2):43–53. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-15-2-43-53.
 9. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях* / Под ред. Н.Н. Каркищенко и др. М.: Профиль-2С, 2010. 358 с. [*Rukovodstvo po laboratornym zhivotnym i alternativnym modelyam v biomeditsinskih issledovaniyah [Manual on laboratory animals and alternative models in biomedical research]*. Ed. by N.N. Karkischenko, et al. Moscow: Profil'-2S Publ., 2010. 358 p. (In Russian)].
 10. Bland B.H., Colom L.V. Extrinsic and intrinsic properties underlying oscillation and synchrony in limbic cortex. *Prog. Neurobiol.* 1993;41:157–208.
 11. Bragin A., Jandó G., Nádasdy Z., Hetke J., Wise K., Buzsáki G. Gamma (40–100 Hz) oscillation in the hippocampus of the behaving rat. *J. Neurosci.* 1995;15(1, Pt 1):47–60.
 12. Kann O. The interneuron energy hypothesis: Implications for brain disease. *Neurobiol. Dis.* 2016;90:75–85. DOI: 10.1016/j.nbd.2015.08.005.
 13. Kann O., Huchzermeyer C., Kovács R., Wirtz S., Schuelke M. Gamma oscillations in the hippocampus require high complex I gene expression and strong functional performance of mitochondria. *Brain*. 2011;134(Pt 2):345–358. DOI: 10.1093/brain/awq333.
 14. Tort A.B., Kramer M.A., Thorn C., Gibson D.J., Kubota Y., Graybiel A.M., et al. Dynamic crossfrequency couplings of local field potential oscillations in rat striatum and hippocampus during performance of a T-maze task. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2008;105(51):20517–20522. DOI: 10.1073/pnas.0810524105.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ | INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Фокин Юрий Владимирович, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;
e-mail: fokin@scbmt.ru

Yuriy V. Fokin, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: fokin@scbmt.ru

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПАНТОВ МАРАЛА НА ФОНЕ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫХ НАГРУЗОК

И. Н. Смирнова^{1,*}, Н. И. Суслов², И. А. Хлусов³, К. В. Зайцев¹, А. А. Гостюхина¹,
С. В. Верещагина⁴, Н. Г. Абдулкина¹

¹ ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр
Федерального медико-биологического агентства»
636070, Российская Федерация, Томская обл., Северск, ул. Мира, д. 4

² ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук»
634009, Российская Федерация, Томск, Кооперативный пер., д. 5

³ ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России
634050, Российская Федерация, Томск, Московский тракт, д. 2

⁴ ФГБУЗ «Сибирский клинический центр Федерального медико-биологического агентства»
660037, Российская Федерация, Красноярск, ул. Коломенская, д. 26

Цель работы — изучить влияние порошка пантов марала на жизнедеятельность кроветворных клеток животных *in vivo* и *in vitro*.

В экспериментах *in vivo* в модели депривации сна использовали мышей-самцов линии СВА/СaLac, мышам опытной группы внутривенно превентивно вводили водную дисперсию пантов марала, мыши контрольной группы получали дистиллированную воду. Проводили выделение костного мозга из бедренной кости, клонирование прекурсоров эритро- и грануломоноцитопоэза, рассчитывали количество колоний клеток. Эксперименты *in vitro* проводились с выделением клеток костного мозга бедренных костей, клетки культивировали с добавлением порошка пантов марала (опытная культура) или дистиллированной воды (контрольная культура), через 7 дней подсчитывали число КОЕ. В результате установлено, что добавление пантов марала не оказывает заметного модулирующего влияния на колониеобразующую активность пула стволовых кроветворных клеток мышей *in vitro*. В то же время *in vivo* превентивное назначение порошка пантов мышам перед стрессовым воздействием (депривация сна) предотвращает угнетение процессов эритропоэза и оказывает модулирующее воздействие на активность КОЕ-Э и КОЕ-ГМ, повышая количество КОЕ-Э и уменьшая количество КОЕ-ГМ более чем в 3 раза. Ведущим механизмом модулирующего влияния пантов марала на жизнедеятельность кроветворных и стволовых клеток можно считать влияние биологически активных веществ пантов на нейроэндокринную регуляцию системы кроветворения, проявляющуюся в живом организме.

Ключевые слова: панты марала, гемопоэз, адаптация, стресс

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Смирнова И.Н., Суслов Н.И., Хлусов И.А., Зайцев К.В., Гостюхина А.А., Верещагина С.В., Абдулкина Н.Г. Экспериментальное обоснование применения пантов марала на фоне экстремальных психоэмоциональных нагрузок. *Биомедицина*. 2019;15(3):33–40. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-33-40>

Поступила 19.04.2019

Принята после доработки 27.05.2019

Опубликована 10.09.2019

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE USE OF MARAL DEER ANTLERS FOR COMBATING EXTREME PSYCHO-EMOTIONAL STRESS

Irina N. Smirnova^{1,*}, Nikolay I. Suslov², Igor A. Khlusov³, Konstantin V. Zaytsev¹, Alena A. Gostyukhina¹, Svetlana V. Vereshchagina⁴, Nataliya G. Abdulkina¹

¹ Siberian Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency
636070, Russian Federation, Tomsk region, Seversk, Mira str., 4

² Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences
634009, Russian Federation, Tomsk, Kooperativnyj lane, 5

³ Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
634050, Russian Federation, Tomsk, Moscow road, 2

⁴ Siberian Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency
660037, Russian Federation, Krasnoyarsk, Kolomenskaya str., 26

This work was aimed at investigating the effect of maral antler powder on the activity of animal hematopoietic stem cells both *in vivo* and *in vitro*.

For *in vivo* experiments based on the model of sleep deprivation, male mice of the CBA/Calac line were used. Prior to the experiment, mice in the experimental and control groups were intragastrically administered with a water dispersion of a maral antler powder and distilled water, respectively. Subsequently, the extraction of bone marrow from the femur, cloning of erythro- and granulo-monocytopenia precursors and count of the number of cell colonies were performed. Experiments *in vitro* involved the extraction of bone marrow cells from the femur followed by their cultivation both in a culture containing a maral antler powder (experimental) and distilled water (control culture). The number of CFU was counted 7 days following the beginning of the experiment.

Maral antlers are found to exhibit no noticeable modulating effect on the colony-forming activity of mouse hematopoietic stem cells *in vitro*. However, according to our *in vivo* experiments on mice, a preventive administration of an antler powder before a stressful influence (sleep deprivation) prevents suppression of erythropoiesis processes, thus exhibiting a modulating effect on the activity of CFU-E and CFU-GM by increasing the number of CFU-E and reducing the number of CFU-GM by more than three times. The modulating effect of maral antlers on the activity of hematopoietic and stem cells is based on the influence of biologically active substances contained therein on the neuroendocrine regulation of the hematopoietic system occurring in living organisms.

Keywords: maral deer antlers, hematopoiesis, adaptation, stress

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Smirnova I.N., Suslov N.I., Khlusov I.A., Zaytsev K.V., Gostyukhina A.A., Vereshchagina S.V., Abdulkina N.G. Experimental Substantiation of the Use of Maral Deer Antlers for Combating Extreme Psycho-Emotional Stress. *Journal Biomed.* 2019;15(3):33–40. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-33-40>

Submitted 19.04.2019

Revised 27.05.2019

Published 10.09.2019

Введение

Высокие физические и психоэмоциональные нагрузки в спорте высших достижений вызывают дисбаланс стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем организма и приводят к развитию структурно-функциональных изменений гомеостаза, мешающих реализовать потенциал спортсмена, и диктуют необходимость назначения средств и методов коррекции дизадаптоза [4, 5]. Одними из средств, препятствующих развитию срыва адаптационных механизмов, являются препараты из пантов и крови оленей, которые имеют многовековую историю практического применения с целью повышения физической и умственной работоспособности, в т. ч. у спортсменов на всех этапах годичного цикла подготовки [3, 7–9].

Развитие невротических состояний у спортсменов во время соревнований и в условиях тренировочных нагрузок может приводить к усилению гипоксии тканей вследствие снижения эффективности эритрона. Это требует разработки способов фармакологической профилактики и коррекции как самих невротических состояний, так и постстрессорной ингибиции эритрона. В этом плане продукты пантового мараловодства, обладающие обоими потенциальными эффектами, могут оказаться полезными в плане подготовки спортсменов к соревнованиям на пике физической и эмоциональной готовности. Одной из основных точек приложения адаптогенного действия пантов является система кроветворения, особенно пролиферация эритроцитарного ростка, что имеет большое значение при экстремальных нагрузках в спорте. Пантовые препараты по стимулирующему влиянию на рост и размножение эритроидных клеток лишь незначительно уступают рекомбинантному эритропоэтину — наиболее активному на сегодня стимулятору эритропоэза [9]. Введение пантогематогена экспериментальным животным в условиях подавления кроветворения,

вызванного высокой дозой цитостатика, усиливает пролиферацию гранулоцитарно-макрофагальных и эритроидных колоний клеток костного мозга [2]. В основе регуляторного влияния пантов на систему кроветворения при экстремальных физических и психоэмоциональных воздействиях лежит их способность модулировать процессы пролиферации и дифференцировки коммитированных прекурсоров гемопоэза, опосредованная через дистантные (нейроэндокринные) и локальные (гемопоэз-индуцирующее микроокружение) факторы [6].

Тем не менее есть данные о неэффективности препаратов пантов в отношении кроветворных клеток. В связи с этим нами были проведены собственные эксперименты *in vitro* и *in vivo* по изучению влияния продуктов пантового мараловодства на жизнедеятельность кроветворных клеток животных.

Цель работы — изучить влияние порошка пантов марала на жизнедеятельность кроветворных клеток животных *in vivo* и *in vitro*.

Материалы и методы

Содержание животных и проведение экспериментальных воздействий регламентировалось Национальным стандартом РФ ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и Приказом Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Все животные содержались в стандартных условиях лаборатории при температуре воздуха 20–24°C и влажности 45–65%.

В качестве модели невротического состояния *in vivo* использовали модель депривации парадоксальной фазы сна (ДПС). ДПС проводилась в течение 2-х сут. Мышей помещали на маленькую площадку, окруженную водой. В самом начале эпизодов «быстрого» сна, когда у животных падал

мышечный тонус, мышцы касались мордой холодной воды и просыпались. Как следствие, длительность фазы парадоксального сна сокращалась на 80–90% при почти полной сохранности продолжительности «медленного» сна, который не сопровождается выраженным мышечным расслаблением.

В экспериментах использовали мышей-самцов линии CBA/CaLac массой 18–20 г, мышам опытной группы (n=5) внутрижелудочно превентивно до ДПС вводили водную дисперсию пантов марала в дозе 20 мг/кг, мыши контрольной группы (n=5) получали дистиллированную воду в аналогичных дозах. Дисперсию порошка пантов марала вводили ежедневно, однократно, в течение 5-ти дней в разовой дозе 20 мг/кг (суммарная доза составляла 100 мг/кг) до начала невротического воздействия. Препарат непосредственно перед использованием растворяли в дистиллированной воде и вводили в желудок с применением шприца-зонда. Контрольным мышам назначали эквивалентный объем (0,2 мл) растворителя.

Забор материала после эвтаназии проводили у интактных животных (n=5), а также группы животных после ДПС. Выделение костного мозга из бедренной кости, клонирование прекурсоров эритро- и грануломоноцитопоза в метилцеллюлозной культуре нефракционированных миелокариоцитов осуществляли общепринятыми методами. В качестве стимулятора роста колониеобразующих единиц эритроцитов (КОЕ-Э) применяли рекомбинантный эритропоэтин человека (0,5 ЕД/мл, Sigma-Aldrich), для стимуляции роста колониеобразующих единиц грануломоноцитов (КОЕ-ГМ) использовали гранулоцитомacroфагальный колониестимулирующий фактор мыши (4×10^{-9} г/мл, Sigma-Aldrich). Количество выросших колоний, каждая из которых происходит из одной колониеобразующей клетки, рассчитывали на 105 засеянных в культуре клеток костного мозга.

Эксперименты *in vitro* проводились с использованием биологического материала 5-ти мышей линии CBA/CaLac. Эвтаназию проводили эфирным наркозом, выделяли костный мозг бедренных костей в концентрации $0,5 \times 10^6$ кариоцитов/мл и культивировали в объеме клеточной взвеси 4,5 мл в течение 1 ч с порошком пантов марала (0,1 мг/мл культуры клеток). В контрольные пробирки добавляли соответствующий объем (0,5 мл) дистиллированной воды. Через 7 дней подсчитывали число КОЕ — клонов родоначальной клетки. Под гранулоцитарными прекурсорами (КОЕ-Г) подразумевали колонии из 50-ти и более ядросодержащих элементов, имеющих морфологию гранулоцитов при окраске азуром II-эозином. Родоначальные клетки моноцитов (КОЕ-М) формировали клоны, включающие 30–50 адгезирующих мононуклеаров, морфологически идентифицируемых при обычной окраске как моноциты/макрофаги. Колонии фотографировали, по площади составляющих их клеток определяли число клеточных делений.

Статистический анализ выполнялся с использованием пакета SPSS (версия 17.0). Проверку гипотезы нормального распределения осуществляли с помощью теста Колмогорова — Смирнова. Учитывая отсутствие нормального распределения признаков, для определения различий между связанными выборками применяли непараметрический T-критерий Вилкоксона, между несвязанными выборками — U-критерий Манна — Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в исследовании принимался равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

Результаты *in vivo* показали слабую колониеобразующую активность кроветворных прекурсоров интактных животных, не подвергавшихся невротическому воздействию с помощью ДПС (табл. 1). Это характери-

зует сбалансированность (интактность) процессов гемопоэза, характерную для оптимальных условий жизнедеятельности организма.

В течение 5-ти сут после ДПС-воздействия отмечалось волнообразное изменение числа колониеобразующих единиц в культуре костного мозга. При этом образование эритроидных колоний после первоначального увеличения падало до минимума (50% от исходного уровня) к 5-м сут исследования. Напротив, выход КОЕ-ГМ на протяжении всего наблюдения оказался выше исходного значения и достигал максимума ко 2-м сут эксперимента (табл. 1). Таким образом, поведение КОЕ-ГМ при ДПС во многом напоминает динамику изменений при др. видах стрессовых воздействий в фазу резистентности общего адаптационного синдрома. Извест-

но, что к медиаторам и гормонам стресса наиболее чувствительны эритроидные прекурсоры. По-видимому, при ДПС в отношении КОЕ-Э развивается торможение (за счет стресс-лимитирующих систем) или фаза истощения ОАС.

Профилактическое курсовое назначение порошка пантов оказывало выраженное модулирующее действие на рост КОЕ-Э и КОЕ-ГМ, наиболее отчетливо проявившееся в точках экстремума (табл. 1). Превентивное введение порошка пантов мышам способствовало увеличению содержания КОЕ-Э и снижению КОЕ-ГМ более чем в три раза.

Для уточнения механизмов регуляторного действия пантов марала на стволовые клетки была выполнена серия исследований *in vitro*. Установлено (табл. 2), что добавление порошка пантов марала способствовало

Таблица 1. Колониеобразующая активность эритроидных и грануломоноцитарных клеток-предшественников костного мозга мышей после превентивного 5-дневного введения порошка пантов марала на фоне экспериментального невроза, $X \pm t$

Table 1. Colony-forming activity of erythroid and granulomonocytic bone marrow progenitor cells of mouse bone marrow after a preventive 5-day administration of a maral antler powder against the background of experimental neurosis, $X \pm t$

№ группы	Исследуемая группа (n=3)	Количество коммитированных прекурсоров	
		КОЕ-Э	КОЕ-ГМ
1	Культура миелокариоцитов интактных животных (без ДПС и введения препарата) на 10^5 нуклеаров (n=5)	2,01±0,25	0,99±0,15
% от интактного уровня			
2	Культура миелокариоцитов после ДПС (n=5)	50±6* 5-е сут	970±96* 2-е сут
3	Культура миелокариоцитов после ДПС+дисперсия пантов (n=5)	389±75** 5-е сут	300±44** 2-е сут

Примечание: n — число исследованных лунок; # — статистически значимые различия с группой 1 при $p < 0,05$; * — статистически значимые различия с группой 2 согласно U-критерию Манна — Уитни.

Note: n is the number of wells studied; # is statistically significant differences with group 1 at $p < 0,05$; * is statistically significant differences with group 2 according to the Mann — Whitney U-test.

Таблица 2. Содержание (на 10^5 нуклеаров/мл) колониеобразующих единиц моноцитов (КОЕ-М) и гранулоцитов (КОЕ-Г) в жидкой культуре миелокариоцитов мыши после 7 сут культивирования исследуемых групп, X

Table 2. Count (10^5 nuclears/ml) of colony-forming units of monocytes (CFU-M) and granulocytes (CFU-G) in a liquid culture of mouse myelokaryocytes following 7 days of cultivation of the studied groups, X

Исследуемая группа	Число колоний	
	КОЕ-М	КОЕ-Г
Контроль (добавление дистиллированной воды)	1,80	3,90
Водная дисперсия порошка пантов марала	4,15	7,13

тенденции к повышению колониеобразующей способности миелокарицитов мышей в культуре клеток *in vitro*, однако статистически значимых различий между группами не получено.

В опытной и контрольной культурах клеток КОЕ были способны выполнять не более 6–7 клеточных делений, что соответствует размерам колоний в 64–128 клеток.

Итак, добавление пантов марала не оказывает заметного модулирующего влияния на колониеобразующую активность пула стволовых кроветворных клеток мышей *in vitro*.

Заключение

Проведенные исследования показали наличие стимулирующего действия пантов на гемопоэз преимущественно в условиях живого организма, *in vivo*. Согласно общим принципам действия препаратов природного происхождения на кроветворение [1], подобный гемопоэзмодулирующий эффект может быть связан с тремя механизмами регуляции:

1) прямым разнонаправленным влиянием биологически активных веществ пантов марала на кроветворные клетки-предшественники;

2) опосредованным действием через локальную систему гемопоэз-индуцирующего микроокружения;

3) опосредованным эффектом через нейроэндокринную систему (дальноранговый механизм контроля стволовых клеток) — например, через модуляцию активности симпатической нервной системы.

Процессы интактного гемопоэза протекают без заметного участия нейроэндокринной системы. В то же время превентивное введение *in vivo* порошка пантов марала при стресс-воздействии на мышей, обусловленном ДПС, оказывало модулирующее действие на динамику КОЕ-Э и КОЕ-ГМ, наиболее отчетливо проявившееся в точках экстремума. Следовательно, влияние пантов марала на активность гемопоэза можно считать нормализующим, что способствует быстрой адаптации системы кроветворения к стрессирующим факторам, в т. ч. экстремальным физическим и психоэмоциональным нагрузкам у спортсменов.

Таким образом, ведущим механизмом модулирующего влияния пантов марала на жизнедеятельность кроветворных клеток можно считать влияние биологически активных веществ пантов на нейроэндокринную регуляцию системы кроветворения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шерстобоев Е.Ю. *Механизмы локальной регуляции кроветворения*. Томск: STT, 2000. 148 с. [Goldberg E.D., Dygaj A.M., Sherstoboev E.Yu. *Mehanizmy lokal'noj reguljacji krovetvoreniya* [Mechanisms of local regulation of hemopoiesis]. Tomsk: STT Publ., 2000. 148 p. (In Russian)].
2. Гурьянцева Л.А., Удут В.В., Симанина Е.В. Механизмы регуляции системы крови под влиянием гемостимуляторов на фоне цитостатической миелосупрессии. *Сибирский онкологический журнал*. 2005;3:39–43. [Guryantseva L.A., Udut V.V., Simanina E.V. *Mehanizmy reguljacji sistemy krovi pod vlijaniem gemostimuljatorov na fone citostaticheskoj mielosupressii* [Mechanisms of blood system regulation under the influence of Hemostimulators on the background of cytostatic mielosuppression]. *Sibirskij onkologicheskij zhurnal* [Siberian Oncology journal]. 2005;3:39–43. (In Russian)].
3. Никитюк Д.В., Латков Н.Ю., Суслов Н.И., Поздняковский В.М. Природные биологически активные комплексы в решении приоритетных задач спортивного питания. *Человек. Спорт. Медицина*. 2017;4:64–76. [Nikityuk D.V., Latkov N.Yu., Suslov N.I., Pozdnyakovskij V.M. *Prirodnye biologicheski aktivnye komplekсы v reshenii prioritetnyh zadach sportivnogo pitaniya* [Natural biologically active complexes in the decision of priority problems of sports nutrition]. *Chelovek. Sport. Medicina* [Man. Sports. Medicine]. 2017;4:64–76. (In Russian)].
4. Новиков В.С., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б. *Функциональное питание человека при экстремальных воздействиях: уч. пособ.* СПб.: Политехника-Принт, 2017. 346 с. [Novikov V.S., Karkischenko V.N., Shustov E.B. *Funkcional'noe pitanie cheloveka pri jekstremal'nyh vozdeystvijah: uch. posob.* [Functional human nutrition under extreme in-

- fluences: studies manual*]. Saint Petersburg: Politehnika-Print Publ., 2017. 346 p. (In Russian)].
5. *Очерки спортивной фармакологии. Т. 2. Векторы фармакопротекции* / Под ред. Н.Н. Каркищенко, В.В. Уйба. М.; СПб.: Айсинг, 2014. 448 с. [*Ocherki sportivnoy farmakologii. T. 2. Vektory farmakoprotekcii* [Essays on sports pharmacology. Vol. 2. Pharmacoprotection vectors]. Ed. by N.N. Karkischenko, V.V. Ujba. Moscow, Saint Petersburg: Ajsing Publ., 2014. 448 p. (In Russian)].
 6. Провалова Н.В., Суслов Н.И., Скурихин Е.Г., Минакова М.Ю., Дыгай А.М. Влияние кропанола на локальные механизмы регуляции гемопоза при конфликтной ситуации. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2005;S1:21–25. [Provalova N.V., Suslov N.I., Skurikhin E.G., Minakova M.Yu., Dygaj A.M. Vliyanie kropanola na lokal'nye mehanizmy reguljacji gemopozjeza pri konfliktnoj situacii [Influence of cropanol on local mechanisms of the regulation of hemopoiine in conflict situation]. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny* [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]. 2005;S1:21–25. (In Russian)].
 7. Семенов В.А., Латков Н.Ю., Кошелев Ю.А., Позняковский В.М. Применение пантогематогена в спортивно-медицинской практике. *Техника и технология пищевых производств*. 2014;2:113–117. [Semenov V.A., Latkov N.Yu., Koshelev Yu.A., Poznyakovskiy V.M. Primenenie pantogematogena v sportivno-medicinskoj praktike [Application of Pantogematogen in sports and medical practice]. *Tehnika i tehnologija pishhevyh proizvodstv* [Technics and technology of food productions]. 2014;2:113–117. (In Russian)].
 8. Смирнова И.Н., Наумов А.О., Барабаш Л.В. Сравнительный анализ эффективности применения природных адаптогенов на основе продуктов пантового оленеводства и пчеловодства у спортсменов зимних сложно-координационных видов спорта на подготовительном этапе годового цикла. *Современные проблемы науки и образования*. 2017;5. [Smirnova I.N., Naumov A.O., Barabash L.V. Sravnitel'nyj analiz jeffektivnosti primenenija prirodnyh adaptogenov na osnove produktov pantovogo olenevodstva i pchelovodstva u sportsmenov zimnih slozhno-koordinacionnyh vidov sporta na podgotovitel'nom jetape godichnogo cikla [Comparative analysis of the effectiveness of the use of natural adaptogenes on the basis of products antler reindeer and beekeeping in winter athletes difficult-coordination sports at the preparatory stage of the annual cycle]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija* [Modern problems of science and education]. 2017;5. (In Russian)].
 9. Суслов Н.И., Гурьянов Ю.Г. *Продукция на основе пантогематогена*. Новосибирск: Сибир. универ. изд-во, 2004. 144 с. [Suslov N.I. Guryanov Yu.G. *Produkcija na osnove pantogematogena* [Products on the basis of Pantohematogen]. Novosibirsk: Sibir. univer. publ., 2004. 144 p. (In Russian)].

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Смирнова Ирина Николаевна*, д.м.н., ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства»;
e-mail: irin-smirnova@yandex.ru

Суслов Николай Иннокентьевич, д.м.н., проф., ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»;
e-mail: suslov_ni@pharmso.ru

Хлусов Игорь Альбертович, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: hlusov53@mail.ru

Зайцев Константин Васильевич, к.м.н., ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства»;
e-mail: exper@med.tomsk.ru

Irina N. Smirnova*, Dr. Sci. (Med.), Siberian Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency;
e-mail: irin-smirnova@yandex.ru

Nikolay I. Suslov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: suslov_ni@pharmso.ru

Igor A. Khlusov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: hlusov53@mail.ru

Konstantin V. Zaytsev, Cand. Sci. (Med.), Siberian Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency;
e-mail: exper@med.tomsk.ru

Гостюхина Алена Анатольевна, к.б.н., ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства»;

e-mail: exper@med.tomsk.ru

Верещагина Светлана Викторовна, ФГБУЗ «Сибирский клинический центр Федерального медико-биологического агентства»;

e-mail: vereschagina_sv@skc-fmba.ru

Абдулкина Наталья Геннадьевна, д.м.н., ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства»;

e-mail: nauka@med.tomsk.ru

Alena A. Gostyukhina, Cand. Sci. (Biol.), Siberian Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency;

e-mail: exper@med.tomsk.ru

Svetlana V. Vereshchagina, Siberian Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency;

e-mail: vereschagina_sv@skc-fmba.ru

Nataliya G. Abdulkina, Dr. Sci. (Med.), Siberian Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency;

e-mail: nauka@med.tomsk.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-41-48>



ОЦЕНКА ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ КОМБИНАЦИЙ НООТРОПОВ С МЕЛАКСЕНОМ ПОСРЕДСТВОМ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА НА МОДЕЛИ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС

Е. В. Ганцгорн*, Д. П. Хлопонин, П. А. Хлопонин, Ю. С. Макляков

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России
344022, Российская Федерация, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29

Посредством комплексного морфологического анализа на модели острой церебральной ишемии у крыс изучена церебропротекторная активность ноотропов и их комбинаций с лекарственным препаратом (ЛП) мелатонина — мелаксеном. Получены достоверные данные, свидетельствующие о том, что профилактическое использование комбинации винпоцетина и мелаксена в значительной степени уменьшает летальность животных и выраженность у них ишемического повреждения головного мозга (ГМ). Постулировано мнение о потенциальной целесообразности применения содержащих мелатонин ЛП для повышения эффективности нейропротекции при церебральной ишемии.

Ключевые слова: церебральная ишемия, морфологический анализ, нейропротекция, ноотропы, мелаксен

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Ганцгорн Е.В., Хлопонин Д.П., Хлопонин П.А., Макляков Ю.С. Оценка церебропротекторной активности комбинаций ноотропов с мелаксеном посредством морфологического анализа на модели ишемии головного мозга у крыс. *Биомедицина*. 2019;15(3):41–48. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-41-48>

Поступила 01.07.2019

Принята после доработки 18.07.2019

Опубликована 10.09.2019

EVALUATION OF THE CEREBROPROTECTIVE ACTIVITY OF NOOTROPICS IN COMBINATION WITH MELAXEN BY A MORPHOLOGICAL ANALYSIS USING A MODEL OF BRAIN ISCHEMIA IN RATS

Elena V. Gantsgorn*, Dmitriy P. Khloponin, Peter A. Khloponin, Yuriy S. Maklyakov

Rostov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
344022, Russian Federation, Rostov-on-Don, Nakhichevanskyj lane, 29

The cerebroprotective activity of nootropics in combination with melaxen (melatonin containing drug) was investigated by a comprehensive morphological analysis using an experimental model of acute cerebral ischemia in rats. According to the obtained data, a preventive use of vinpocetine in combination with melaxen significantly reduces the degree of lethality among experimental animals and the severity of ischemic brain damage. A suggestion is made about the potential feasibility of melatonin-containing drugs for increasing the efficacy of neuroprotection in cerebral ischemia.

Keywords: cerebral ischemia, morphological analysis, neuroprotection, nootropics, melaxen

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Gantsgorn E.V., Khloponin D.P., Khloponin P.A., Maklyakov Yu.S. Evaluation of the Cerebroprotective Activity of Nootropics in Combination with Melaxen by a Morphological Analysis Using a Model of Brain Ischemia in Rats. *Journal Biomed.* 2019;15(3):41–48. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-41-48>

Submitted 01.07.2019

Revised 18.07.2019

Published 10.09.2019

Введение

Цереброваскулярные заболевания — одна из основных причин заболеваемости, смертности и инвалидизации в большинстве экономически развитых и развивающихся стран мира [5, 11]. В России уровень заболеваемости, в частности инсультом, — один из самых высоких в мире и составляет более 450 случаев на 100 тыс. населения [6]. Следует подчеркнуть, что в нашей стране от цереброваскулярной патологии люди умирают в более молодом возрасте, чем в странах Запада. Так, в США среди всех случаев смертности от болезней системы кровообращения менее 10% приходится на возраст до 65 лет [8], в то время как в России в этом возрасте умирают до 30% больных. Более того, в России смертность от инсульта — одна из самых высоких в мире. На ее долю приходится около 180 смертей на каждые 100 тыс. человек. Важно отметить, что именно основные последствия ишемии ГМ (ИГМ) — инсульт и сосудистая деменция — являются ведущей причиной первичной инвалидизации населения. По данным Национальной ассоциации по борьбе с инсультом, 30% пациентов, перенесших инсульт, для ухода за собой нуждаются в посторонней помощи, а 20% — не могут самостоятельно ходить [6, 7]. Таким образом, инсульт представляет собой важнейшую медико-социальную проблему.

В связи с этим разработка методов защиты ГМ от повреждающего воздействия ишемии является приоритетным направлением современной фармакологии.

Особый интерес для профилактики и лечения ИГМ представляет гормон эпифиза мелатонин, обладающий многофункциональной активностью, в т. ч. выраженным антиоксидантным действием [1, 9, 14]. В связи с этим потенциально велика роль мелатонина и в осуществлении защиты ГМ от инсульта.

В целях полноценного анализа патологических изменений в органах и тканях животных, подвергшихся воздействию факторов ишемической природы, а также для достоверной оценки нейропротекторной активности ЛП обязательным и важным является проведение морфологического анализа.

Цель исследования — посредством оценки выживаемости и световой и электронной микроскопии изучить церебропротекторную активность пирацетама, винпоцетина, содержащего мелатонин ЛП мелаксена и их комбинаций при экспериментальной ИГМ (ЭИГМ) у крыс.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 112 крысах-самцах популяции линий Wistar массой 250–300 г. За 14 дней до моделирования ИГМ животные были разделены на группы контроля (ложнооперированные (ЛО) и подвергшиеся ИГМ (ИШ)), получавшие физ. р-р в дозе 0,2 мл/сут в/б, и 5 опытных групп, которым производилась ИГМ путем двухсторонней окклюзии общих сонных артерий (ОСА) по окончании 2-недельного курса введения изучаемых ЛП: мелаксе-

на (М) в дозе 0,25 мг/кг/сут в/б; пирацетам (П) в дозе 300 мг/кг/сут в/б и винпоцетина (В) в дозе 5 мг/кг/сут в/б, а также их комбинаций с мелаксеном (ПМ и ВМ).

24 ч спустя после ИГМ выжившие крысы подвергались эвтаназии. Забор экспериментального материала (образцы лобной коры ГМ и гиппокампа) производился у 3-х крыс из каждой группы. Обработка материала проводилась согласно общепринятым протоколам. Извлеченные ткани промывали в холодном 0,1 моль/л буферном р-ре натрия фосфата (рН=7,4). Далее в форме кусочков размером 1×1 мм они фиксировались в холодном 2,5% р-ре глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере (рН=7,4) с последующей постфиксацией 1% р-ром тетраоксида осмия. Материал промывали в холодном р-ре фосфатного буфера, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в аралдит. Полимеризацию блоков производили ступенчато при $t^{\circ} = 48; 59$ и 80°C . После прицельной заточки блоков ультратонкие срезы (50–90 нм) изготавливали на ультрамикротоме LKB-8800. Срезы контрастировали в 2,5% спиртовом р-ре уранил-ацетата [12, 13] и р-ре цитрата свинца [10], а затем просматривали в просвечивающем электронном микроскопе Теснаі G2 Spirit Bio TWIN с системой фотосъемки Теснаі Plate Camera System и циф-

ровой видеокамерой высокого разрешения SIS MegaView III.

Результаты и их обсуждение

Предварительно проведенный анализ выживаемости крыс показал, что в группе ЛО 24-часовую двухстороннюю окклюзию ОСА пережили 100% крыс.

Как видно из данных, представленных в табл. 1, в группе ИШ (контроль II уровня) суточная выживаемость была минимальной и составила всего 34,8%.

В течение 24 ч постишемического периода процент выживаемости в группе П отличался от контроля на 9,6%, составив 44,4%. На фоне введения мелаксена и винпоцетина показатель выживаемости через 1 сут после ЭИГМ был выше и равнялся 50 и 61,5% соответственно. При превентивном введении комбинации пирацетама и мелаксена выживаемость крыс составила 53,3%, а при совместном введении винпоцетина с мелаксеном — 80,0%.

При световой и электронной микроскопии тканевых элементов ГМ крыс через 24 ч после окклюзии ОСА (рис. 1) были выявлены отчетливые изменения, характерные для острого ишемического состояния нервных клеток, и, прежде всего, их четкая дифференциация на «светлые» и «темные», связанная с выраженным полиморфизмом

Таблица 1. Влияние изучаемых ЛП на показатели выживаемости крыс при ЭИГМ

Table 1. Effect of the studied drugs on the survival rates of rats with acute cerebral ischemia

Группы животных	Количество прооперированных животных	Количество животных, переживших 24-часовую двухстороннюю окклюзию ОСА	Количество животных, умерших после 24-часовой двухсторонней окклюзии ОСА	Выживаемость, %
ИШ	46	16	30	34,8
П	36	16	20	44,4*
М	32	16	16	50,0*
В	26	16	10	61,5**
ПМ	30	16	14	53,3**
ВМ	20	16	4	80,0**

Примечание: * — статистически значимые отличия по сравнению с ИШ при $p \leq 0,05$; ** — статистически значимые отличия по сравнению с ИШ при $p \leq 0,01$.

Note: * — statistically significant differences compared with the control group at $p \leq 0.05$; ** — statistically significant differences compared with the control group at $p \leq 0.01$.

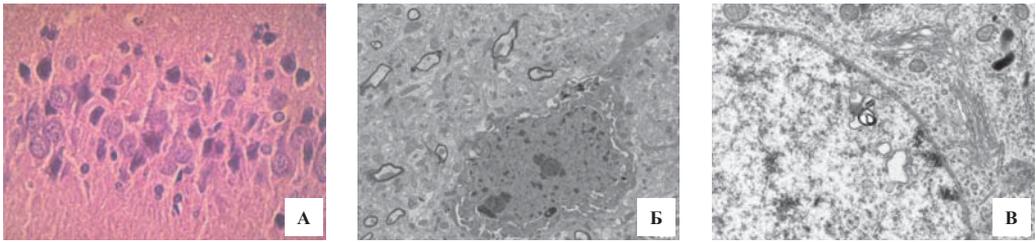


Рис. 1. Кора ГМ и гиппокамп. Группа ИШ. А — световая микроскопия, окраска гематоксилином-эозином. Ув. $\times 400$. Гиперхроматоз нейронов гиппокампа. Б, В — ультраструктура. Электронная микроскопия. Ув. Б) 4200 («темный» нейрон); В) 6500 (деструктивные изменения в кариоплазме нейрона).

Fig. 1. Cortex and hippocampus. The control group (acute cerebral ischemia). А — light microscopy. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. $\times 400$. Hyperchromatosis of the hippocampal neurons. Б, В — ultrastructure. Electron microscopy. Magn. Б) 4200 ("dark" neuron); В) 6500 (destructive changes in the neuron karyoplasm).

нейронов по составу, характеру распределения и объему структурных элементов белоксинтезирующей системы.

Кроме того, очевидными морфологическими проявлениями ИГМ были явления хроматолиза; вакуолизация цитоплазмы; набухание и сморщивание тел и отростков нейронов; активация фагоцитоза; изменения структурно-функционального состояния ядер нейрона — модификация их формы; величины, структуры и топологии ядрышка; возрастание количества конденсатов хроматина; выявление множества пор в кариотекке.

Нарушалось при ИГМ и структурно-функциональное состояние гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Наиболее типичными в этом отношении были выраженные явления отека и снижение электронной плотности цитоплазмы астроцитов. Для ядер астроцитов, как и для нейронов, были свойственны признаки конденсации хроматина. В целом в сосудах микроциркуляторного русла очевидны признаки замедления и даже полного выключения кровотока.

Проведенный сравнительный морфологический анализ изученного материала в группах ЛО и ИШ показал, что в условиях церебральной ишемии отмечаются выраженные дистрофические и дегенераторные изменения нервных и нейроглиальных клеток, но наиболее чувствительными к ишемии оказались пирамидные клетки

3-го слоя коры ГМ и СА1-поля гиппокампа, т. к. именно среди них регистрировалось не только большее число поврежденных нейронов, но и более глубокая степень их повреждения.

Анализ морфологических эффектов исследуемых нами ЛП продемонстрировал ряд особенностей их влияния на элементы нервной ткани в условиях ЭИГМ.

Так, введение мелаксена перед моделированием ЭИГМ (рис. 2) улучшало морфофункциональное состояние и нейронов, и глиоцитов, хотя и не было лишено ряда негативных проявлений влияния на ГМ, к которым можно отнести набухание ядер нейроцитов (особенно выраженное в гиппокампе), поскольку свидетельствовало о нарастании гидрофильности кариоплазмы и способности этого ЛП в условиях гипоксии повышать проницаемость клеточных мембран, а также ядерной оболочки.

Проведенный светооптический и электронно-микроскопический анализ биологического материала, взятого из ГМ экспериментальных животных в группе ПМ (рис. 3), показал, что использование комбинации пираретама с мелаксеном не оказывало видимого протекторного эффекта на состояние нейронов и глии коры ГМ и гиппокампа. Более того, вероятен был даже неблагоприятный характер воздействия вышеуказанной комбинации ЛП на ишемизированную нервную ткань, про-

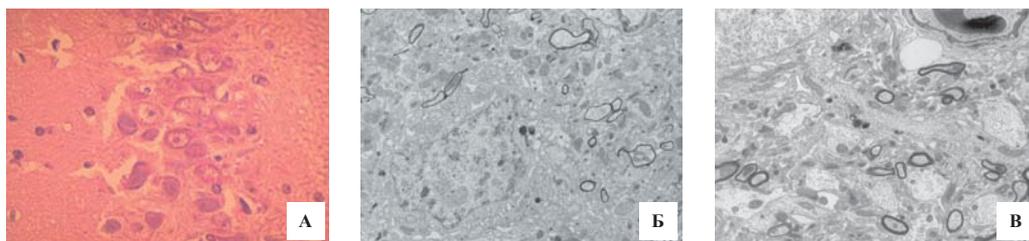


Рис. 2. Кора ГМ и гиппокамп. Группа М. А — световая микроскопия, окраска гематоксилином-эозином. Ув. $\times 400$. Гиперхромные нейроны поля СА1. Б, В — ультраструктура. Электронная микроскопия. Ув. Б) 4200 (конденсация хроматина в кариоплазме «темнеющего» нейрона); В) 6000 («светлый» нейрон).

Fig. 2. Cortex and hippocampus. Melaxen. A — light microscopy. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. $\times 400$. Hyperchromic neurons of the CA1 field. Б, В — ultrastructure. Electron microscopy. Magn. Б) 4200 (chromatin condensation in the karyoplasm of the darkening neuron); В) 6000 (“light” neuron).

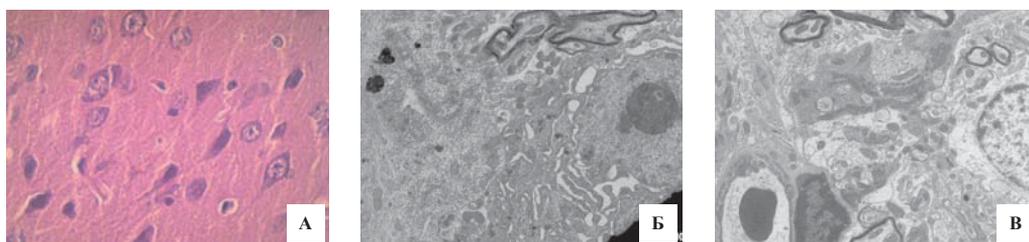


Рис. 3. Кора ГМ и гиппокамп. Группа ПМ. А — световая микроскопия, окраска гематоксилином-эозином. Ув. $\times 400$. Гиперхромные нейроны коры ГМ. Б, В — ультраструктура. Электронная микроскопия. Ув. Б) 6000 («темный» нейрон); В) 6000 (капилляр с прилежащими перницитом и астроцитом).

Fig. 3. Cortex and hippocampus. Piracetam + Melaxen. A — light microscopy. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. $\times 400$. Hyperchromic neurons of the cortex. Б, В — ultrastructure. Electron microscopy. Magn. Б) 6000 (“dark” neuron); В) 6000 (capillary with a pericyte and an astrocyte).

явившийся в форме активации процессов нейродегенерации в тканях обоих изучавшихся отделов ГМ.

Наблюдалось относительное увеличение представительства т. н. «темных» нейронов в общей массе нейроцитов, увеличение доли погибающих (в т. ч. посредством апоптоза) нервных клеток как в пирамидном слое лобного отдела коры, так и гиппокампа. Большая часть как основных тканевых элементов (нейро- и глиоцитов), так и клеток интерстиция, в частности перницитов кровеносных капилляров, была пикнотична.

Ядерная оболочка большинства нейроцитов была извилиста, наблюдалась деконденсация хроматина в кариоплазме, активация ядрышек и обилие свободных рибосом и полисом в цитоплазме, разви-

тость элементов ЭПС, комплекса Гольджи, набухание и деформация митохондрий с нечетко контурируемыми мембранами и редкими кристами. Характерной была также активация лизосомальной реакции и аутофагосом.

Минимальное повреждение тканей ГМ после ишемии было отмечено нами в группе ВМ, т. е. на фоне введения комбинации винпоцетина с мелаксеном (рис. 4), которое очевидно повышало толерантность нейронов к ишемическому повреждению.

Безусловны были коррективы и в структуре ГЭБ. Именно следствием явного протекторного эффекта винпоцетина с мелаксеном можно считать изменения в микроциркуляторном русле, характеризовавшиеся прежде всего спецификой морфологической реакции выстилающего сосуда эндотелия.

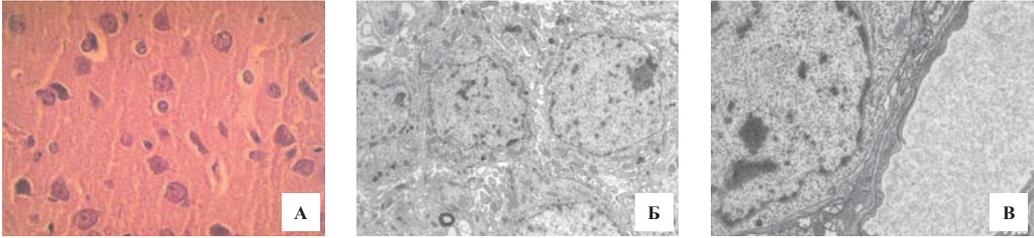


Рис. 4. Кора ГМ и гиппокамп. Группа ВМ. А — световая микроскопия, окраска гематоксилином-эозином. Ув. ×400. «Светлые» и гиперхромные нейроны коры. Б, В — ультраструктура. Электронная микроскопия. Ув. Б) 4200 (4 «светлых» нейрона — обзорная микрофотография); В) 9900 («светлый» нейрон и капилляр).

Fig. 4. Cortex and hippocampus. Vinpocetine + Melaxen. А — light microscopy. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. ×400. “Light” and hyperchromic neurons of the cortex. Б, В — ultrastructure. Electron microscopy. Magn. Б) 4200 (4 “light” neurons — a review micrograph); В) 9900 (“light” neuron and capillary).

Это менее выраженная гетероморфность эндотелиоцитов; явное снижение числа их в состоянии внутриклеточного отека; значительное нивелирование проявлений перикапиллярного отека. Наконец, введение винпоцетина и мелаксена способствовало улучшению кровоснабжения ГМ за счет увеличения количества функционирующих тонкостенных сосудов и улучшения реологических свойств крови.

Для объективизации структурно-функционального состояния ГМ нами было проведено определение соотношения числа нейронов и глиоцитов (коэффициента нейроны/глиоциты (Н/Г)) в ГМ контрольных и экспериментальных групп животных — ключевого интегративного показателя, характеризующего тип структурно-функциональных взаимоотношений в центральной нервной системе (ЦНС) (табл. 2).

Из представленных в табл. 2 данных видно, что минимальным коэффициент Н/Г был при моделировании ИГМ в группе ИШ. Использование же изучавшихся ЛП, и особенно комбинации винпоцетина с мелаксеном, сохраняло в норме соотношение между основными клеточными элементами нервной ткани (нейро- и глиоцитами).

Это подтверждает сделанный по итогам светооптического и ультраструктурного анализа, а также на основании проведенных нами ранее оценки биоэлектрической активности ГМ и биохимического анализа на содержание маркеров свободнорадикальных процессов в крови крыс при ЭИГМ вывод о способности комбинации винпоцетина с мелаксеном повышать устойчивость ГМ к гипоксии, выживаемость нейронов в условиях ИГМ, оказывать благоприятное влияние на функциональное состояние ГМ [2–4].

Таблица 2. Результаты анализа коэффициента Н/Г
Table 2. Analysis of the Neurocyte/Glyocyte ratio

№	Группа	Коэффициент Н/Г
1	ЛО	2
2	ИШ	1,31
3	М	2
4	ПМ	2
5	ВМ	2,08

Выводы

На основании проведенного сравнительного морфологического анализа исследованного нами материала при моделировании ЭИГМ установлены проявления нейропротекторного влияния ноотропных средств и мелаксена на тканевые элементы коры ГМ и гиппокампа. В большей степени они свойственны комбинации винпоцетина с мелаксеном. Подтверждением данному заключению является не только более выраженная сохранность структурных характеристик исследованных отделов ГМ, но и очевидное снижение гетероморфности нейронов с изменением степени гиперхроматоза их ядер и цитолиза с увеличением числа или объема ядрышек; улучшение кровоснабжения ГМ за счет повышения количества функционирующих тонкостенных сосудов; улучшение гемореологии.

Комбинация винпоцетина с мелаксеном при ИГМ способна поддерживать на уровне, близком к норме, соотношение между нейронами и нейроглиоцитами — ключевой интегративный показатель, характеризующий тип структурно-функциональных взаимоотношений в ЦНС. Результаты выполненного исследования позволяют позиционировать выраженность нейропротекторной активности изучавшихся ЛП и их комбинаций по вектору: **пирацетам < мелаксен < пирацетам + мелаксен < винпоцетин < винпоцетин + мелаксен.**

В совокупности всех полученных данных, на наш взгляд, целесообразно дальнейшее изучение фармакологических свойств содержащих мелатонин ЛП, т. к. их превентивное применение может способствовать расширению возможностей нейропротекции при профилактике ИГМ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Арушанян Э.Б. Защитная роль мелатонина при нарушении мозгового кровообращения. *Русский медицинский журнал (Неврология)*. 2010;18(6):57–61. [Arushanyan E.B. Zashchitnaya rol' melatonina pri narusheniyah mozgovogo krovoobrashcheniya [The protective role of melatonin in disorders of cerebral circulation]. *Russkij medicinskij zhurnal (Nevrologiya) [Rus. Med. J. (Neurology)]*. 2010;18(6):57–61. (In Russian)].
2. Ганцгорн Е.В., Колмакова Т.С., Макляков Ю.С., Хлопонин Д.П. Оценка действия церебропротекторных средств методом хемилуминесцентного анализа антиоксидантных свойств крови на модели глобальной ишемии головного мозга. *Биофармацевтический журнал*. 2012;4(2):14–20. [Gantsgorn E.V., Kolmakova T.S., Maklyakov Yu.S., Khloponin D.P. Ocenka dejstviya cerebroprotektoornykh sredstv metodom hemilyuminescentnogo analiza antioksidantnykh svoystv krovi na modeli global'noj ishemii golovnogo mozga [Evaluation of the action of cerebroprotective drugs by chemiluminescent analysis of the antioxidant properties of blood on the model of global cerebral ischemia]. *Biopharmaceuticheskij zhurnal [Biopharmaceutical J.]*. 2012;4(2):14–20. (In Russian)].
3. Ганцгорн Е.В., Макляков Ю.С., Хлопонин Д.П. Количественный фармако-ЭЭГ анализ активности ноотропов и их комбинаций с мелаксеном при глобальной ишемии головного мозга у крыс. *Биомедицина*. 2015;3:87–94. [Gantsgorn E.V., Maklyakov Yu.S., Khloponin D.P. Kolichestvennyj farmako-EЭГ analiz aktivnosti nootropov i ih kombinacij s melaksenom pri global'noj ishemii golovnogo mozga u krys. *Biomeditsina*. 2015;3:87–94. (In Russian)].
4. Ганцгорн Е.В., Хлопонин Д.П., Макляков Ю.С. Анализ выживаемости и частотно-пространственного распределения электроэнцефалографических показателей крыс при глобальной ишемии головного мозга. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017;2:43–49. [Gantsgorn E.V., Khloponin D.P., Maklyakov Yu.S. Analiz vyzhivaemosti i chastotno-prostranstvennogo raspredeleniya elektroencefalograficheskikh pokazatelej krys pri global'noj ishemii golovnogo mozga [Analysis of the survival and frequency-spatial distribution of electroencephalographic indices of rats with global cerebral ischemia]. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik [Kuban Scientific and Medical Bulletin]*. 2017;2:43–49. (In Russian)].
5. Захаров В.В., Калимеева Е.Ю. Нейропротективная терапия в остром и восстановительном периодах ишемического инсульта. *Эффективная фармакотерапия*. 2017;33:10–14. [Zaharov V.V., Kalimeeva E.Yu. Nejroprotektivnaya terapiya v ostrom i vosstanovitel'nom periodah ishemicheskogo insul'ta [Neuroprotective therapy in acute and recovery periods of ischemic stroke]. *Effective pharmacotherapy*. 2017;33:10–14. (In Russian)].

6. Самородская И.В., Зайратьянц О.В., Перхов В.И., Андреев Е.М., Вайсман Д.Ш. Динамика показателей смертности населения от острого нарушения мозгового кровообращения в России и США за 15-летний период. *Архив патологии*. 2018;2:30–37. [Samorodskaya I.V., Zajrat'yanc O.V., Perhov V.I., Andreev E.M., Vajsman D.Sh. Dinamika pokazatelej smertnosti naseleniya ot ostrogo narusheniya mozgovogo krovoobrashcheniya v Rossii i SShA za 15-letnij period [Dynamics of mortality indicators of the population from acute cerebrovascular accident in Russia and the United States over a 15-year period]. *Arch. Pathology*. 2018;2:30–37. (In Russian)].
7. Чазова И.Е., Ощепкова Е.В. Борьба с сердечно-сосудистыми заболеваниями: проблемы и пути их решения на современном этапе. *Вестник Росздравнадзора*. 2015;5:7–10. [Chazova I.E., Oshchepkova E.V. Bor'ba s serdechno-sosudistymi zabolevaniyami: problemy i puti ih resheniya na sovremennom etape [Fight against cardiovascular diseases: problems and ways of solving them at the present stage] *Vestnik Roszdravnadzora [Bulletin of Roszdravnadzor]*. 2015;5:7–10. (In Russian)].
8. Andrew N.E., Thrift A.G., Cadilhac D.A. The prevalence, impact and economic implications of atrial fibrillation in stroke: what progress has been made? *Neuroepidemiology*. 2013;40:227–239.
9. Cardinali D.P. Melatonin, aging, and Alzheimer's disease. In: *Principles and practice of geriatric sleep medicine*. Cambridge University Press, 2010. 448 p.
10. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 1963;17:208–212.
11. Song T., Pan Y., Chen R. Is there a correlation between socioeconomic disparity and functional outcome after acute ischemic stroke? *PLoS One*. 2017;12. ID e0181196.
12. Watson M.L. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1958;4:475–478.
13. Watson M.L. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals: II. Application of solutions containing lead and barium. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1958;4:727–730.
14. Watson R.R. *Melatonin in the promotion of health*. 2nd ed. Taylor & Francis Group LLC., 2012. 582 p.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ганцгорн Елена Владимировна*, к.м.н., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России; e-mail: gantsgorn@inbox.ru

Elena V. Gantsgorn*, Cand. Sci. (Med.), Rostov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: gantsgorn@inbox.ru

Хлопонин Дмитрий Петрович, д.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России; e-mail: khloponin@list.ru

Dmitriy P. Khloponin, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: khloponin@list.ru

Хлопонин Петр Андреевич, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России

Peter A. Khloponin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Макляков Юрий Степанович, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России; e-mail: maklus005@gmail.com

Yuriy S. Maklyakov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: maklus005@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ЛЕГКИХ ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВВЕДЕНИИ ЛИПОСОМ НА ОСНОВЕ ЯИЧНОГО ЛЕЦИТИНА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРОКСИИ

И. Л. Котович*, Ж. А. Рутковская, А. Д. Таганович

УО «Белорусский государственный медицинский университет»
220116, Республика Беларусь, Минск, просп. Дзержинского, д. 83

Окислительный стресс рассматривают как один из факторов, приводящих к повреждению легких у недоношенных новорожденных. Целью настоящего исследования было изучить влияние антиоксидантов в составе липосом из яичного лецитина при их ингаляционном введении на показатели окислительного стресса в легких новорожденных морских свинок в условиях экспериментальной гипероксии (трое суток). В качестве материала для исследования использовали бронхоальвеолярную лаважную жидкость (БАЛЖ). Ингаляционное введение липосом, содержащих N-ацетилцистеин и α -токоферол, в условиях экспериментальной гипероксии способствовало подавлению продукции активных форм кислорода клетками, нормализации активности глутатионпероксидазы и содержания карбонильных производных и не влияло на уровень диеновых конъюгатов в БАЛЖ. Введение липосом, содержащих ретиноиды (ретинол и ретиноевую кислоту), в условиях гипероксии сопровождалось нормализацией активности глутатионпероксидазы и содержания продуктов окислительной модификации белков в БАЛЖ, при этом интенсивность генерации активных форм кислорода оставалась повышенной, а уровень диеновых конъюгатов и продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, превышал показатели животных, подвергавшихся изолированному действию гипероксии. Таким образом, ингаляционное введение липосом, содержащих ретиноиды и яичный лецитин, оказывало не только анти-, но и прооксидантное действие в легких в условиях гипероксии, в отличие от липосомных форм N-ацетилцистеина и α -токоферола.

Ключевые слова: липосомы, легкие, гипероксия, антиоксиданты, фосфатидилхолин

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Котович И.Л., Рутковская Ж.А., Таганович А.Д. Показатели окислительного стресса в легких при ингаляционном введении липосом на основе яичного лецитина в условиях экспериментальной гипероксии. *Биомедицина*. 2019;15(3):49–58. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-49-58>

Поступила 07.03.2019

Принята после доработки 03.06.2019

Опубликована 10.09.2019

OXIDATIVE STRESS MARKERS IN THE LUNGS UNDER EXPERIMENTAL HYPEROXIA WITH INHALED LIPOSOMES BASED ON EGG LECITHIN

Irina L. Kotovich*, Zhanna A. Rutkovskaya, Anatoliy D. Taganovich

Belarusian State Medical University
220116, Republic of Belarus, Minsk, Dzerzhinskogo avenue, 83

Oxidative stress is considered to be a factor leading to lung damage in premature infants. The aim of this study was to investigate the effect of inhaled antioxidants incorporated into egg lecithin liposomes on the indicators of oxidative stress in the lungs of newborn guinea pigs under experimental hyperoxia (3 days). Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was used as a material for the study. Under hyperoxia exposure, inhalation of liposomes containing N-acetylcysteine and alpha-tocopherol contributed to the suppression of the reactive oxygen species production by cells, normalization of glutathione peroxidase activity and carbonyls content, while not affecting the level of diene conjugates in BALF. The introduction of retinoid-containing liposomes (retinol and retinoic acid) under hyperoxia was accompanied by normalization of glutathione peroxidase activity as well as the content of protein oxidation products in BALF, while the generation of reactive oxygen species remained enhanced, and the diene conjugates and thiobarbituric acid reactive products exceeded the levels in animals exposed to hyperoxia alone. Thus, the inhaled liposomes containing retinoids and egg lecithin exhibit not only anti-, but also a prooxidant effect in the lungs under hyperoxia exposure, unlike the liposomal forms of N-acetylcysteine and alpha-tocopherol.

Keywords: liposomes, lungs, hyperoxia, antioxidants, phosphatidylcholine

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Kotovich I.L., Rutkovskaya Zh.A., Taganovich A.D. Oxidative Stress Markers in the Lungs under Experimental Hyperoxia with Inhaled Liposomes Based on Egg Lecithin. *Journal Biomed.* 2019;15(3):49–58. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-49-58>

Submitted 07.03.2019

Revised 03.06.2019

Published 10.09.2019

Введение

Использование высоких концентраций кислорода при выхаживании недоношенных новорожденных является одним из факторов, способствующих развитию у детей тяжелой хронической патологии — бронхолегочной дисплазии (БЛД) [7]. Проблема профилактики и фармакологический коррекции данной патологии остается нерешенной до настоящего времени. Не в последнюю очередь это обусловлено пробелами в понимании патогенетических механизмов, вовлеченных в развитие БЛД на разных стадиях.

Окислительный стресс традиционно рассматривают как один из важнейших факторов, приводящих к повреждению легких у новорожденных. В перинатальном периоде имеется целый ряд предпосылок к развитию оксидантного стресса: применяемая при выхаживании недоношенных новорожденных повышенная концентрация кислорода, дефицит антиоксидантов, высокий уровень несвязанного железа, инфекции и ответная реакция иммунокомпетентных

клеток, длительное воспаление [9, 16]. В этой связи изучение возможности защиты легких новорожденных от повреждения оксидантами представляется весьма перспективным. Результаты проведенных ранее исследований в этом направлении неоднозначны. Предпринимались попытки профилактики БЛД за счет коррекции оксидантно-антиоксидантного равновесия с помощью внутривенного введения N-ацетилцистеина, витамина А и его производных (внутримышечно), витамина Е (перорально), Cu-Zn-супероксиддисмутазы (СОД) (ингаляционно) [8, 10, 19, 20]. За исключением последнего способа, эффективность была незначительной. Вероятной причиной может быть то, что способы введения (кроме ингаляционного) не обеспечивали доставку препаратов в достаточном количестве в легкие [14]. Ингаляционный путь обладает и другими преимуществами — он неинвазивен и безопасен.

Еще одним подходом, повышающим эффективность препаратов, считается их

включение в липосомы [17]. Липосомы являются биосовместимыми, биodeградируемыми и нетоксичными. Липосомная форма облегчает проникновение веществ в клетки и увеличивает продолжительность их действия. Такой способ подходит для переноса как гидрофильных, так и гидрофобных и амфифильных молекул. При заболеваниях легких липосомы в форме аэрозоля могут быть эффективным средством доставки веществ к клеткам альвеолярного эпителия. Как показывают эксперименты на животных и исследование, проведенное с помощью добровольцев, ингаляционное введение липосом хорошо переносится, не оказывает негативного влияния на функциональные показатели легких и не дает побочных эффектов [18].

Ранее нами было показано, что ингаляционное введение липосом, приготовленных на основе дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ) и содержащих α -токоферол или ретиноиды в своем составе, эффективно подавляет окислительный стресс, индуцированный действием гипероксии в легких [4]. Учитывая высокую стоимость препаратов ДПФХ, в настоящем исследовании мы изучили эффекты липосом, приготовленных на основе менее дорогостоящего фосфатидилхолина природного происхождения, выделенного из яичного желтка (ЯФХ).

Цель настоящего исследования — изучить влияние антиоксидантов в составе липосом из яичного лецитина при их ингаляционном введении на показатели окислительного стресса в легких в условиях экспериментальной гипероксии.

Материалы и методы

Материалы

Эксперимент проводили с использованием новорожденных морских свинок, которые вместе с кормящими матерями находились на стандартном рационе вивария БГМУ с постоянным доступом к пи-

тывею воде. При выполнении данного исследования строго соблюдали этические нормы и правила работ с лабораторными животными. Морские свинки были выбраны для исключения влияния на изучаемые показатели эндогенной аскорбиновой кислоты — антиоксиданта, который не синтезируется у морских свинок, как и у человека.

Для создания условий гипероксии животных в течение 1 сут после рождения помещали в плексигласовую камеру, в которую постоянно подавали кислород. Концентрацию кислорода контролировали с помощью портативного анализатора кислорода ПГК-06-100Р (ЗАО «Инсовт», РФ) и поддерживали на уровне не менее 70%. Длительность воздействия гипероксии составляла 3 сут. В течение дня камеру один раз открывали на 20 мин для чистки клетки, кормления животных и проведения ингаляций в соответствующих группах. Животные контрольной группы дышали обычным воздухом.

Группы исследования. Были сформированы следующие группы: «контроль» (n=8), «гипероксия» (n=10), «гипероксия + N-ацетилцистеин-ЯФХ» (n=4), «гипероксия + α -токоферол-ЯФХ» (n=4), «гипероксия + ретиноиды-ЯФХ» (n=5) и «гипероксия + ЯФХ» (n=4) (последняя группа получала с ингаляциями т. н. «пустые» липосомы).

Приготовление, состав и введение ингаляционной смеси. Ингаляционная смесь содержала многослойные липосомы, которые готовили методом механического диспергирования [11] непосредственно перед применением, и натрий-фосфатный буфер (0,1 моль/л) с ЭДТА (0,1 ммоль/л), pH=7,4. Использовались реагенты высокой степени очистки («Sigma-Aldrich», Германия; p-p N-ацетилцистеина для ингаляций, «Белмедпрепараты», Беларусь).

В группе «гипероксия + N-ацетилцистеин-ЯФХ» смесь для ингаляций включала

липосомы, содержащие N-ацетилцистеин (250 мг/кг) и ЯФХ (L- α -фосфатидилхолин из яичного желтка, $\geq 99\%$) (50 мг/кг).

В группе «гипероксия + α -токоферол-ЯФХ» животные получали липосомы, содержащие α -токоферол (12,5 мг/кг) и ЯФХ (45 мг/кг).

В группе «гипероксия + ретиноиды-ЯФХ» липосомная смесь содержала полностью транс-ретинол (6 мг/кг), полностью транс-ретиноевую кислоту (0,6 мг/кг), ЯФХ (45 мг/кг).

В группе «гипероксия + ЯФХ» вводили липосомы, содержащие только ЯФХ (50 мг/кг).

Ингаляции проводили с использованием компрессорного небулайзера ComrAir (NE-C28-E, Omron, Китай). Ингаляции проводили 1 раз в два дня, всего дважды в течение 3-х сут воздействия гипероксии.

Получение материала для исследования. Не ранее чем через 22 ч после последнего введения препаратов животных наркотизировали (тиопентал натрия внутривенно, 15 мг/кг), промывали легкие через эндотрахеальный зонд трижды по 8 мл 0,9% р-ром NaCl и получали бронхоальвеолярную лаважную жидкость (БАЛЖ) для исследования.

Методы

Общий белок в БАЛЖ определяли по Лоури.

Продукцию клетками активных форм кислорода (АФК) изучали методом люминол-зависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ). Клетки БАЛЖ осаждали центрифугированием при 200 g, 4°C в течение 10 мин (рефрижераторная центрифуга РС-6, Кыргызстан). Полученный осадок ресуспендировали в среде Эрла и проводили подсчет клеточных элементов. 1 мл клеточной суспензии ($2,0 \times 10^6$ /мл) с добавлением 50 мкл 0,1 М CaCl₂ и 50 мкл 0,5 мМ люминола вносили в стеклянную кювету для регистрации хемилюминесценции. Регистрировали про-

дукцию АФК клетками при адгезии к стеклянной поверхности без внесения дополнительных стимуляторов в течение 20 мин (биохемилуминометр БХЛ-1, Минск, Беларусь). Запись и анализ кинетических кривых проводили с помощью компьютерной программы NAS UniChrom (Беларусь). Показатель интенсивности генерации АФК рассчитывали как площадь под кривой ЛЗХЛ за установленный период времени и выражали в отн. ед.

Определяли содержание первичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в БАЛЖ — диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и др. продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой; а также продуктов окислительной модификации белков — карбонильных производных аминокислот.

Для определения **содержания диеновых конъюгатов (ДК)** использовали метод, основанный на экстракции этих соединений смесью равных объемов гептана и изопропанола [1]. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре (Solar, РБ) против соответствующего контроля при 220 нм (соединения с изолированными двойными связями) и 232 нм (ДК). Для оценки относительного содержания ДК рассчитывали величину отношения оптической плотности E_{232}/E_{220} . Результат выражали в отн. ед.

Определение продуктов, реагирующих с ТБК (ТБК-РП), проводили колориметрическим методом [2]. Интенсивность окраски измеряли спектрофотометрически против соответствующего контроля при 532 нм. При расчетах учитывали коэффициент молярной экстинкции $1,56 \times 10^5$ моль⁻¹×см⁻¹ и содержание общего липидного фосфора в пробе. Результат выражали в отн. ед.

Определение окислительной модификации белков проводили по методу, описанному Е.Е. Дубининой [3]. Метод основан на реакции взаимодействия карбонильных производных окисленных аминокислот-

ных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином. Образование окрашенных 2,4-динитрофенилгидразонов регистрировали спектрофотометрически при 360 нм. Для расчета использовали коэффициент молярной экстинкции $22 \times 10^3 \text{ моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$. Содержание карбонильных производных в БАЛЖ выражали в нмоль/мг белка.

Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли спектрофотометрически с использованием аналитических наборов («Анализ Х», Беларусь). Метод основан на ингибировании супероксидзависимого окисления кверцетина в присутствии СОД. Активность СОД выражали в нМ/мин/мг белка.

Активность каталазы определяли спектрофотометрическим методом [5]. В основе метода лежит способность пероксида водорода образовывать с молибдатом аммония стабильный окрашенный комплекс, который регистрируется при 410 нм. Активность фермента выражали в нМ/мин/мг белка.

Активность глутатионпероксидазы в БАЛЖ определяли по методу В.М. Моина [6]. Скорость глутатионпероксидазной реакции оценивали по количеству непрореагировавшего восстановленного глутатиона, который определяли реакцией с 5,5'-дителиобис-2-нитробензойной кислотой. Спектрофотометрировали пробы против соответствующего контроля при 412 нм. Активность выражали в нМ/мин/мг белка.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 10,0. Для анализа данных на первом этапе определяли нормальность распределения цифровых показателей в группах с использованием критерия Шапиро — Уилка. Дальнейший статистический анализ проводили с использованием непараметрического U-теста Манна — Уитни для независимых выборок. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Данные представ-

лены в виде медианы и интерквартильных размахов (25–75 процентиля).

Результаты исследований

Данные, полученные в ходе исследования, представлены в табл. 1 и 2. Интенсивность генерации АФК клетками БАЛЖ новорожденных морских свинок, находившихся в условиях гипероксии 3 сут, была выше, чем у контрольных животных, в 2,3 раза, $p < 0,05$ (табл. 1). Введение «пустых» липосом, а также липосом, содержащих ретиноиды и ЯФХ, на фоне гипероксии не оказывало достоверного влияния на продукцию АФК клетками. После введения липосом, содержащих N-ацетилцистеин и ЯФХ, а также α -токоферол и ЯФХ, регистрируемая интенсивность ЛЗХЛ снижалась и достоверно не отличалась от контрольных значений.

Уровень первичных продуктов ПОЛ — диеновых конъюгатов — был достоверно повышен в БАЛЖ всех групп животных, подвергавшихся гипероксии (табл. 1). Причем наиболее высокий уровень диеновых конъюгатов был выявлен в группе, получавшей ингаляции с ретинолом и ретиноевой кислотой в составе липосом (в 6,5 раз выше по сравнению с контролем и в 2,4 раза выше по сравнению с группой «гипероксия», различия в обоих случаях статистически достоверны). Введение липосом с ретиноидами на фоне гипероксии (в отличие от всех др. изучаемых воздействий) сопровождалось также увеличением содержания малонового диальдегида и др. ТБК-РП, в БАЛЖ (в 2 раза по сравнению с контролем, $p < 0,05$).

Воздействие гипероксии в течение трех сут приводило к значительному росту медианного уровня карбонильных производных аминокислот в белках БАЛЖ (в 4,5 раза по сравнению с уровнем контроля, $p < 0,05$) (табл. 1). После введения «пустых» липосом данный показатель оставался повышенным, тогда как липосомные формы

Таблица 1. Генерация активных форм кислорода и уровень продуктов окислительной модификации липидов и белков в БАЛЖ новорожденных морских свинок при ингаляционном введении липосом различного состава в условиях гипероксии

Table 1. Generation of reactive oxygen species and the level of products of oxidative modification of lipids and proteins in BALF of newborn guinea pigs with inhalation administration of liposomes of different composition under conditions of hyperoxia

Группа	АФК, отн. ед.	ДК, отн. ед.	ТБК-РП, отн. ед.	Карбонильные производные, нмоль/мг белка
Контроль	8,6 (6,9–11,4)	1,3 (1,0–1,4)	8,9 (8,2–15,0)	13,2 (10,7–37,6)
Гипероксия	20,2 (17,2–25,7)*	3,6 (2,2–4,4)*	12,3 (10,3–17,0)	60,1 (36,0–73,6)*
Гипероксия + ЯФХ	20,4 (18,6–23,0)*	4,5 (3,6–5,4)*	8,2 (7,1–10,4)	55,7 (49,5–77,9)*
Гипероксия + N-ацетилцистеин-ЯФХ	10,9 (9,0–12,8)#	3,9 (3,3–4,6)*	11,2 (10,1–14,2)	24,5 (22,8–29,7)#
Гипероксия + α -токоферол-ЯФХ	15,4 (8,2–22,4)	4,5 (2,9–5,1)*	13,5 (10,5–18,4)	26,0 (23,5–30,0)#
Гипероксия + ретиноиды-ЯФХ	27,1 (20,7–35,7)*	8,5 (7,6–9,4)#	18,2 (16,7–19,5)*	24,2 (23,2–26,7)*

Примечание: ЯФХ — яичный фосфатидилхолин; АФК — активные формы кислорода; ДК — диеновые конъюгаты; ТБК-РП — продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой; * — $p < 0,05$ по сравнению с группой «контроль»; # — $p < 0,05$ по сравнению с группой «гипероксия».

Note: ЯФХ — egg phosphatidylcholine; АФК — reactive oxygen species; ДК — diene conjugates; ТБК-РП — products that react with thiobarbituric acid; * — $p < 0.05$ compared with the control group; # — $p < 0.05$ compared with the group “hyperoxia”.

N-ацетилцистеина, α -токоферола и ретиноидов в равной степени способствовали нормализации уровня карбонильных производных в БАЛЖ.

Установлено достоверное снижение активности глутатионпероксидазы в БАЛЖ у животных, подвергавшихся гипероксии, до 43% от уровня контроля (табл. 2). В группах животных, получавших ингаляции с липосомами, содержащими ЯФХ и N-ацетилцистеин, токоферол и ретиноиды, активность глутатионпероксидазы восстанавливалась и достоверно не отличалась от группы «контроль». «Пустые» липосомы такого влияния не оказывали. Различий между изучаемыми группами в активности СОД и каталазы в БАЛЖ выявлено не было.

Обсуждение результатов

В данной работе изучалось влияние липосом, приготовленных на основе фосфолипида природного происхождения — фосфатидилхолина из яичного желтка — и препаратов, обладающих антиокси-

дантной активностью (N-ацетилцистеин, α -токоферол, ретиноиды), на оксидантный статус легких в условиях гипероксии. При проведении исследования мы базировались на ранее полученных данных об эффективном подавлении окислительного стресса, вызванного длительной гипероксией в легких, при ингаляционном введении липосом, состоящих из ДПФХ и α -токоферола или ДПФХ и ретиноидов [4]. Замена основного липидного компонента липосом на яичный фосфатидилхолин имеет экономическую целесообразность, однако изменения оксидантно-антиоксидантного баланса в легких в условиях гипероксии и введения фосфолипидов, содержащих ненасыщенные жирные кислоты (в отличие от ДПФХ), требовали отдельного изучения.

«Пустые» липосомы, состоящие из ЯФХ, не оказывали влияния на изменения в легких новорожденных морских свинок, вызванные действием гипероксии: продукция АФК клетками, уровни продуктов ПОЛ, окисли-

Таблица 2. Активность СОД, каталазы и глутатионпероксидазы в БАЛЖ новорожденных морских свинок после введения липосом на фоне гипероксии

Table 2. The activity of SOD, catalase and glutathione peroxidase in BALF of newborn guinea pigs after the administration of liposomes against the background of hyperoxia

Группа	СОД, нмоль/мин/мг белка	Каталаза, нмоль/мин/мг белка	Глутатионпероксидаза, нмоль/мин/мг белка
Контроль	44,5 (42,6–57,4)	0,28 (0,21–0,46)	86,5 (62,8–99,0)
Гипероксия	47,1 (37,5–61,3)	0,35 (0,27–0,42)	37,2 (12,1–65,5)*
Гипероксия + ЯФХ	37,7 (36,7–48,6)	0,22 (0,21–0,37)	30,1 (27,9–39,2)*
Гипероксия + N-ацетилцистеин-ЯФХ	47,2 (38,2–52,4)	0,30 (0,28–0,34)	70,0 (47,2–103,3)
Гипероксия + α-токоферол-ЯФХ	51,4 (40,9–68,9)	0,34 (0,25–0,45)	94,9 (42,7–128,9)#
Гипероксия + ретиноиды-ЯФХ	45,0 (41,4–50,0)	0,32 (0,30–0,33)	79,4 (30,3–126,4)

Примечание: ЯФХ — яичный фосфатидилхолин; * — $p < 0,05$ по сравнению с группой «контроль»; # — $p < 0,05$ по сравнению с группой «гипероксия».

Note: ЯФХ — egg phosphatidylcholine; * — $p < 0.05$ compared with the control group; # — $p < 0.05$ compared with the group “hyperoxia”.

тельной модификации белков и активности антиоксидантных ферментов в БАЛЖ не отличались от группы «гипероксия».

Эффекты ингаляционного введения известных антиоксидантов α-токоферола и N-ацетилцистеина в составе липосом из ЯФХ на фоне гипероксии были однонаправленными: наблюдались снижение продукции АФК клетками, нормализация активности глутатионпероксидазы, подавление окислительной модификации белков (в пользу этого свидетельствует отсутствие роста уровня карбонильных производных в БАЛЖ) при сохранении повышенного уровня первичных продуктов ПОЛ — диеновых конъюгатов. Следует отметить, что при использовании липосом из ДПФХ и α-токоферола на фоне воздействия гипероксии в течение 3 сут (в отличие от 14 сут воздействия) также не отмечалось нормализации уровня диеновых конъюгатов, кроме того, уровень карбонильных производных в белках оставался повышенным [4], т. е. липосомы из ЯФХ оказались более эффективными в отношении подавления окислительного повреждения белков в бронхоальвеолярном пространстве.

Предположительно, более выраженный эффект липосом, состоящих из ЯФХ, обусловлен изменением свойств их мембранных слоев. В работе [13] было показано, что токоферол спонтанно перемещается между слоями фосфолипидов и может переходить с липосом на мембраны клеток даже без поглощения липосомных частиц. Причем такой межмембранный переход выражен в большей степени, если липосомы содержат ненасыщенные жирные кислоты. Нельзя исключить, что наличие ненасыщенных жирных кислот в липидных слоях липосом, за счет увеличения их проницаемости, повышает доступность и водорастворимых компонентов, включенных в их состав (в частности, N-ацетилцистеина).

Интересные результаты были получены при исследовании влияния липосом, содержащих ЯФХ и ретиноиды. Мы обнаружили, что в условиях гипероксии ингаляционное введение липосом такого состава не влияет на интенсивность продукции АФК клетками — она остается повышенной и даже имеет тенденцию к росту по сравнению с изолированным действием гипероксии. Кроме того, увеличивается ко-

личество диеновых конъюгатов и продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, в БАЛЖ. При этом имеет место повышение активности глутатионпероксидазы до контрольных значений и снижение уровня карбонильных производных, т. е. можно говорить о сочетании про- и антиоксидантных эффектов ретиноидов в изучаемых условиях. При использовании липосом на основе ДПФХ и ретиноидов прооксидантное действие не проявлялось [4].

В основе обнаруженных эффектов ретиноидов могут лежать следующие обстоятельства. Известно, что антиоксидантные эффекты витамина А и его производных обусловлены их способностью взаимодействовать со свободными радикалами и, тем самым, уменьшать их количество, а также влиянием на экспрессию антиоксидантных ферментов. Полученные нами данные согласуются с результатами др. исследователей, продемонстрировавших индукцию секреторной формы глутатионпероксидазы в миобластах под влиянием ретиноидов [12]. Окисление же двойных связей в ретиноидах под действием свободных радикалов сопровождается образованием пероксидных продуктов, которые сами по себе могут стимулировать процессы ПОЛ. Ненасыщенные жирные кислоты в составе яичного лецитина также подвержены перекисному окислению и могут служить дополнительным источником продуктов ПОЛ. Вероятно, это является причиной роста в БАЛЖ уровня диеновых конъюгатов и продуктов, реагирующих с ТБК, после введения липосом, содержащих ЯФХ и ретиноиды, в условиях гипероксии.

Имеются противоречивые данные о характере влияния ретиноидов на продукцию АФК клетками. Ранее была показана способность ретиноевой кислоты подавлять продукцию супероксидного анион-радикала и пероксида водорода *in vitro* на клетках, выделенных из крови (нейтрофилах и макрофагах) [21]. В то же время в работе [15]

сообщается об усилении образования АФК *in vitro* и *in vivo* в различных тканях (мозг, печень, легкие) в присутствии витамина А и его производных вследствие набухания и нарушения организации внутренней митохондриальной мембраны и изменения работы комплексов дыхательной цепи. Таким образом, анализ литературы и результатов наших экспериментов позволяет заключить, что эффект ретиноидов в отношении баланса редокс-систем может быть разнонаправленным и, вероятно, в значительной степени зависит от др. факторов, включая дозировки препаратов, условия эксперимента, присутствие иных соединений с анти- и прооксидантными свойствами.

Выводы

В условиях экспериментальной гипероксии продолжительностью 3 сут ингаляционное введение липосом на основе фосфатидилхолина из яичного желтка, содержащих N-ацетилцистеин и α -токоферол, способствует подавлению продукции активных форм кислорода клетками, нормализации активности глутатионпероксидазы и содержания карбонильных производных и не влияет на уровень диеновых конъюгатов в БАЛЖ.

Введение липосом, содержащих яичный фосфатидилхолин и ретиноиды (ретинол и ретиноевую кислоту), в условиях гипероксии сопровождается нормализацией активности глутатионпероксидазы и содержания продуктов окислительной модификации белков в БАЛЖ, при этом интенсивность генерации АФК остается повышенной, а уровень продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов и продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой) превышает показатели животных, подвергавшихся действию только гипероксии в течение 3 сут. Можно констатировать, что комбинация ретиноидов и яичного лецитина оказывает не только анти-, но и прооксидантное действие в условиях гипероксии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови. *Вопросы медицинской химии*. 1989;35(1):127–135. [Volchegorskij I.A., Nalimov A.G., Yarovinskij B.G., Lifshits R.I. Sopotavlenije razlichnyh podhodov k opredeleniyu produktov perekisnogo okislenija lipidov v heptan-isopropanol'nyh ekstraktah krovi [Comparison of different approaches to the determination of lipid peroxidation products in heptane-isopropanol blood extracts]. *Voprosy medicinskoj himii [Questions of Medical Chemistry]*. 1989;35(1):127–135. (In Russian)].
2. Гончаренко М.С., Латина А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов. *Лабораторное дело*. 1985;1:60–61. [Goncharenko M.S., Latina A.M. Metod otsenki perekisnogo okisleniya lipidov [Method of lipid peroxidation assessment]. *Laboratornoje delo [Laboratory Work]*. 1985;1:60–61. (In Russian)].
3. Дубинина Е.Е. *Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток. Жизнь и смерть, созидание и разрушение*. СПб.: Медицинская пресса, 2006. 400 с. [Dubinina E.E. *Produkty metabolizma kisloroda v funkcionalnoj aktivnosti kletok. Zhizn' i smert', sozidanije i razrushenie [Oxygen metabolism products in the functional activity of cells. Life and death, creation and destruction]*. Saint Petersburg: Medicinskaya pressa, 2006. 400 p. (In Russian)].
4. Котович И.Л., Рутковская Ж.А., Таганович А.Д. Коррекция оксидантно-антиоксидантного баланса в легких при гипероксии с использованием липосомных форм альфа-токоферола и ретиноидов в эксперименте. *Биомедицинская химия*. 2017;63(4):289–295. [Kotovich I.L., Rutkovskaya Zh.A., Taganovich A.D. Korrekciya oksidantno-antioksidantnogo balansa v ljogkih pri giperoksii s ispolzovaniem liposomnyh form alfa-tokoferola i retinoidov v eksperimente [Correction of oxidant-antioxidant balance in lungs during hyperoxia using liposomal alpha-tocopherol and retinoids in the experiment]. *Biomedicinskaya himiya [Biomedical Chemistry]*. 2017;63(4):289–295. (In Russian)].
5. Мамонтова Н.С., Белобородова Э.И., Тюкалова Л.И. Активность каталазы при хроническом алкоголизме. *Клиническая лабораторная диагностика*. 1994;1:27–28. [Mamontova N.S., Beloborodova E.I., Tyukalova L.I. Aktivnost katalazy pri hronicheskom alkogolizme [Catalase activity in chronic alcoholism]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 1994;1:27–28. (In Russian)].
6. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. *Лабораторное дело*. 1986;12:724–727. [Moin V.M. Prostoj i specificheskij metod opredeleniya aktivnosti glutatioperoksidazy v eritrocitah [A simple and specific method for determining glutathione peroxidase activity in erythrocytes]. *Laboratornoje delo [Laboratory Work]*. 1986;12:724–727. (In Russian)].
7. Овсянников Д.Ю., Петрук Н.И., Кузьменко Л.Г. Бронхолегочная дисплазия у детей. *Педиатрия*. 2004;1:3–8. [Ovsyannikov D.Yu., Petruk N.I., Kuz'menko L.G. Bronholegocchnaya displaziya u detej [Bronchopulmonary dysplasia in children]. *Pediatriya [Pediatrics]*. 2004;1:3–8. (In Russian)].
8. Ahola T., Lapatto R., Raivio K.O., Selander B., Stigson L., Jonsson B., et al. N-acetylcysteine does not prevent bronchopulmonary dysplasia in immature infants: a randomized controlled trial. *J. Pediatr.* 2003;143(6):713–719.
9. Chang L.-Y., Subramaniam M., Yoder B.A., Day B.J., Ellison M.C., Sunday M.E., et al. A catalytic antioxidant attenuates alveolar structural remodeling in bronchopulmonary dysplasia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003;167:57–64.
10. Davis J.M., Parod R.B., Michele T., Allred E., Price A., Rosenfeld W. Pulmonary outcome at 1 year corrected age in premature infants treated at birth with recombinant human CuZn superoxide dismutase. *Pediatrics*. 2003;111(3):469–476.
11. Dua J.S., Rana A.C., Bhandari A.K. Liposome: methods of preparation and applications. *Int. J. Pharm. Studies and Res.* 2012;3:14–20.
12. Haddad M.E., Jean E., Turki A., Hugon G., Vernus B., Bonnieu A., et al. Glutathione peroxidase 3, a new retinoid target gene, is crucial for human skeletal muscle precursor cell survival. *J. Cell Science*. 2012;125:6147–6156.
13. Kagan V., Bakalova R., Zhelev Z., Rangelova D., Serbinova E., Tyurin V., et al. Intermembrane transfer and antioxidant action of alpha-tocopherol in liposomes. *Arch. Biochem. Biophys.* 1990;280:147–152.
14. Nagata K., Iwasaki Y., Yamada T., Yuba T., Kono K., Hosogi S., et al. Overexpression of manganese superoxide dismutase by N-acetylcysteine in hyperoxic lung injury. *Respir. Med.* 2007;101(4):800–807.
15. Oliveira M.R. Vitamin A and retinoids as mitochondrial toxicants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2015. Article ID 140267. DOI: 10.1155/2015/140267.
16. Spears K., Cheney C., Zerzan J. Low plasma retinol concentrations increase the risk of developing bronchopulmonary dysplasia and long-term respiratory disability in very-low-birth-weight infants. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004;80:1589–1594.
17. Suntres Z.E. Liposomal antioxidants for protection against oxidant-induced damage. *J. Toxicol.* 2011;16. ID 152474.
18. Thomas D.A., Myers M.A., Wichert B., Schreiber H., Gonzalez-Rothi R.J. Acute effects of liposome aerosol inhalation on pulmonary function in healthy human volunteers. *Chest*. 1991;99(5):1268–1270.

19. Tyson J.E., Wright L.L., Oh W., Kennedy K.A., Mele L., Ehrenkranz R.A., et al. Vitamin A supplementation for extremely-low-birth-weight infants. National Institute of child health and human development neonatal research network. *New Engl. J. Med.* 1999;340(25):1962–1968.
20. Watts J.L., Milner R., Zipursky A., Paes B., Ling E., Gill G., et al. Failure of supplementation with vitamin E to prevent bronchopulmonary dysplasia in infants less than 1500 g birth weight. *Eur. Resp. J.* 1991;4(2):188–190.
21. Wolfson M., Shinvwell E.S., Zvillich M., Rager-Zisman B. Inhibitory effect of retinoic acid on the respiratory burst of adult and cord blood neutrophils and macrophages: potential implication to bronchopulmonary dysplasia. *Clin. Exp. Immunol.* 1988;72:505–509.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Котович Ирина Леонидовна*, к.м.н., доц., УО «Белорусский государственный медицинский университет»;
e-mail: kotovich-iryna@rambler.ru

Irina L. Kotovich*, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Belarusian State Medical University;
e-mail: kotovich-iryna@rambler.ru

Рутковская Жанна Александровна, к.м.н., доц., УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Zhanna A. Rutkovskaya, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Belarusian State Medical University

Таганович Анатолий Дмитриевич, д.м.н., проф., УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Anatoliy D. Taganovich, Dr. Sci. (Med.), Prof., Belarusian State Medical University

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ВЛИЯНИЕ ГЕКСАМЕТОНИЯ, АТРОПИНА, АНАПРИЛИНА И ИХ КОМБИНАЦИИ НА ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА КРЫС

Е. В. Курьянова*, А. В. Трясучев, В. О. Ступин, Ю. Д. Жукова, Н. А. Горст

*ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет»
414000, Российская Федерация, Астрахань, пл. Шаумяна, д. 1*

Изучали изменения частоты сердечного ритма (ЧСР) и волновых характеристик вариабельности сердечного ритма (ВСР) у самцов нелинейных крыс в фармакологических пробах с однократным введением гексаметония (ГМ, 7 мг/кг), атропина (АТ, 1 мг/кг), анаприлина (АНП, 2 мг/кг), а также при последовательном введении ГМ и атропина (анаприлина) в тех же дозах. Спектральный анализ ВСР проводили в диапазонах: HF (0,9–3,5 Гц), LF (0,32–0,9 Гц), VLF (0,15–0,32 Гц). Введение ГМ повысило ЧСР на 12–16%, снизило мощность волн VLF на 85% ($p < 0,001$), LF на 60% ($p < 0,05$), HF почти на 40%, что отражает степень участия Н-холинергической передачи на уровне вегетативных узлов в формировании волн ВСР. Блокада М-холинорецепторов (М-ХР) с помощью АТ резко повысила ЧСР (на 30%, $p < 0,001$) и снизила мощность волн спектра ВСР на 95–98% ($p < 0,001$), чем подтверждается ведущая роль системы М-ХР кардиомиоцитов в формировании всех волн спектра ВСР. Введение блокатора β -АР снизило ЧСР (на 25%, $p < 0,001$) и мощность волн ВСР, особенно VLF (на 70%, $p < 0,01$). Предварительная блокада вегетативных узлов с помощью ГМ несколько ослабила падение мощности волн ВСР после введения АТ, нивелировала урежение ЧСР и потенцировала прирост мощности HF-волн после введения АНП. Результаты проб показали, что мощность волн всех диапазонов спектра ВСР в наибольшей мере (на 95–98%) определяется регуляторными влияниями через М-холинорецепторы кардиомиоцитов, а также их взаимодействием с влияниями через адренорецепторы миокарда и ганглионарный уровень вегетативной нервной системы. Вегетативные узлы вносят вклад в формирование всех волн ВСР, особенно VLF и LF, влияют на выраженность и характер изменений ВСР при воздействии на М-ХР и АР миокарда, что важно учитывать в экспериментальной практике.

Ключевые слова: вариабельность сердечного ритма, спектральный анализ, блокада Н- и М-холинорецепторов, блокада β -адренорецепторов, проба с гексаметонием, атропиновая проба, анаприлиновая проба

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 14-04-00912).

Для цитирования: Курьянова Е.В., Трясучев А.В., Ступин В.О., Жукова Ю.Д., Горст Н.А. Влияние гексаметония, атропина, анаприлина и их комбинации на вариабельность сердечного ритма крыс. *Биомедицина*. 2019;15(3):59–70. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-59-70>

Поступила 28.01.2019

Принята после доработки 16.05.2019

Опубликована 10.09.2019

EFFECT OF HEXAMETONIUM, ATROPINE, ANAPRILINE AND THEIR COMBINATION ON THE HEART RATE VARIABILITY IN RATS

Evgeniya V. Kuryanova^{*}, Andrey V. Tryasuchev, Victor O. Stupin, Yuliya D. Zhukova, Nina A. Gorst

*Astrakhan State University
414000, Russian Federation, Astrakhan, Shaumyana square, 1*

In this work, we set out to study changes in the heart rate frequency (HRF) and wave characteristics of the heart rate variability (HRV) of nonlinear male rats in pharmacological tests under a single administration of hexametonium (HM, 7 mg/kg), atropine (AT, 1 mg/kg), anapriline (ANP, 2 mg/kg), as well as under a sequential administration of HM and atropine (anapriline) in the same doses. A spectral analysis of the HRV was carried out across the following ranges: HF (0.9–3.5 Hz), LF (0.32–0.9 Hz), VLF (0.15–0.32 Hz). HM administration increased the HRF by 12–16%, simultaneously reducing the power of VLF, LF and HF by 85% ($p < 0.001$), 60% ($p < 0.05$) and almost 40%, respectively. This indicates the degree of participation of H-cholinergic transmission in the formation of HRV waves at the level of vegetative nodes. The blockade of M-cholinoreceptors (M-ChR) with AT sharply increased the HRF (by 30%, $p < 0.001$) and reduced the wave power of the HRV spectrum by 95–98% ($p < 0.001$), which confirms the leading role of the cardiomyocyte M-ChR system in the formation of all the waves of the HRV spectrum. The injection of the β -AR blocker lowered the HRF by 25% ($p < 0.001$) and the HRV wave power, in particular VLF, by 70% ($p < 0.01$). A preliminary blockade of the vegetative nodes by HM somewhat weakened a drop in the power of HRV waves after AT administration, leveled the reduction of the HRF and potentiated the increase in the power of HF waves after ANP administration. The results indicate that the wave power across the entire range of the HRV spectrum is greatly determined (by 95–98%) by regulatory influences through the M-cholinoreceptors of the cardiomyocyte system, as well as by their interaction with influences through the myocardial adrenoreceptors and the ganglionic level of the autonomic nervous system. Vegetative nodes contribute to the formation of all HRV waves, in particular VLF and LF, change the degree and character of HRV changes when affecting the myocardial M-ChR and AR, which should be taken into account in experimental practice.

Keywords: heart rate variability, spectral analysis, blockade of N- and M-cholinoreceptors, blockade of β -adrenoreceptors, test with hexametonium, atropinic test, anapriline test

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: The work was carried out under the support of the RFBR grant No. 14-04-00912.

For citation: Kuryanova E.V., Tryasuchev A.V., Stupin V.O., Zhukova Yu.D., Gorst N.A. Effect of Hexametonium, Atropine, Anapriline and Their Combination on the Heart Rate Variability in Rats. *Journal Biomed.* 2019;15(3):59–70. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-59-70>

Submitted 28.01.2019

Revised 16.05.2019

Published 10.09.2019

Введение

Показатели вариабельности сердечного ритма (ВСР) достаточно широко используются для оценки т. н. «вегетативного баланса» организма [2, 6–10, 13, 15, 17]. При этом наряду с размахом варьирования кардиоинтервалов (ΔX), амплитудой

моды (АМо), индексом напряжения (ИН) для этой цели используются показатели спектрального анализа [1, 8, 9, 12]. Традиционно мощность высокочастотных волн HF рассматривается в качестве критерия активности парасимпатических влияний, а мощность медленных волн LF — кри-

терия активности симпатических влияний на сердце [1, 8, 10, 13]. Однако блокада М-холинорецепторов атропином снижает мощность не только HF-волн, но и др. волн спектра ВСР [2–4, 6, 7, 9, 10, 13]. В свою очередь, мощность LF-волн после введения блокаторов β -адренорецепторов (β -АР) изменяется неоднозначно — может как повышаться, так и снижаться [6, 7, 11, 16]. Иными словами, по данным литературы, парасимпатическая природа HF-волн и симпатическая природа LF-волн до сих пор не нашли четкого подтверждения, но при определении «вегетативного баланса» эти трактовки продолжают применяться. Поэтому вопрос о роли холинергических и адренергических механизмов регуляции в формировании волн ВСР требует продолжения исследований и сбора доказательной базы для пересмотра или уточнения известных трактовок параметров ВСР. В ходе собственных исследований [3, 4] мы обратили внимание, что при изучении механизмов формирования волн ВСР редко применяются ганглиоблокаторы [18], а через вегетативные узлы к сердцу поступают сигналы от ЦНС, различных рефлексогенных зон, они выполняют роль периферических нервных центров, оказывающих самостоятельное регуляторное влияние на периферические органы [12]. Вероятно, активность вегетативных узлов способна модулировать эффекты агонистов и антагонистов рецепторных молекул, локализованных в миокарде. Для более четкого понимания роли вегетативных нервных влияний в формировании волн ВСР необходимо иметь данные о динамике параметров ВСР при воздействии как на вегетативные узлы, так и на периферические холино- и адренорецепторы. В этой связи **цель** настоящей работы — проанализировать особенности изменений спектральных параметров ВСР при блокаде вегетативных узлов, М-ХР и β -АР кардиомиоцитов, используемых в качестве самостоятельных

воздействий, а также в комбинации, на модели нелинейных крыс.

Материалы и методы

Исследования выполнены на 70-ти половозрелых крысах-самцах 4–5 мес. возраста из вивария при лаборатории экспериментальной физиологии Астраханского государственного университета. До и в период эксперимента животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды (температура воздуха 24–26°C, относительная влажность 35–40%, освещение в помещениях — искусственное, с фиксированным режимом день-ночь), в пластиковых клетках с мелкой древесной стружкой на стандартном рационе — комбикорм гранулированный полнорационный для лабораторных животных (экструдированный) ПК-120 ГОСТ 50258-92 производства ООО «Лабораторкорм». Животные потребляли корм и воду *ad libitum*.

Все эксперименты выполнялись в соответствии с Национальным стандартом РФ ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», Приказом Минздрава РФ от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и Европейской конвенции Directive 2010/63/EU of 22 September 2010. Эксперименты проведены в осенне-зимний период.

ЭКГ регистрировали у бодрствующих нефиксированных крыс на аппаратно-программном комплексе «Варикард» («Рамена», Россия) при помощи миниатюрных электродов-зажимов при местном обезболивании лидокаином, как описано ранее [3, 4]. До введения препаратов у всех животных осуществляли записи ЭКГ и рассчитывали исходные показатели ВСР в состоянии спокойного бодрствования.

На первом этапе исследований для проведения фармакологических проб экспериментальные животные были разделены на три группы, которым однократно вво-

дили: 1) блокатор Н-холинорецепторов гексаметоний в дозе, достаточной для блокады Н-холинергической передачи сигнала в вегетативных узлах (ГМ, 7 мг/кг, производство «Sigma»), [3, 15, 18]; 2) блокатор М-холинорецепторов атропин (АТ, 1 мг/кг, ГНЦЛС, Украина) [2, 4, 6, 7]; 3) блокатор β -адренорецепторов анаприлин (АНП, 2 мг/кг, ИФА, Россия) [6, 7, 13, 16].

На втором этапе исследований использовали комбинированные пробы, когда динамику показателей ВСР у животных анализировали при последовательном введении: 1) гексаметония (ГМ, 7 мг/кг) и М-холиноблокатора (АТ, 1 мг/кг) [3], 2) гексаметония (ГМ, 7 мг/кг) и β -адреноблокатора (АНП, 2 мг/кг). Временной интервал между инъекциями гексаметония и блокаторов М-ХР или β -АР составлял 10–15 мин. Все препараты вводили в/б. В качестве контроля были взяты крысы, которые вместо названных препаратов получали в/б физ. р-р из расчета 1 мл/кг.

Регистрацию ЭКГ и анализ ВСР выполняли в течение первых 5–10 мин после введения препаратов, когда, согласно [14], развиваются их периферические эффекты.

Измерение R-R-интервалов и обработку данных осуществляли в компьютерной программе «ИСКИМ6» («Рамена», Россия). Для анализа из каждой записи брали непрерывные ряды из 350 R-R-интервалов. Определяли ЧСР (уд./мин), индекс напряжения (отн. ед.) [1, 3, 4]: $ИН = (АМО/2 \times \Delta X \times МО) \times (50/7,8) \times 1000$. Спектральный анализ ВСР проводили в диапазонах: HF (0,90–3,50 Гц), LF (0,32–0,90 Гц), VLF (0,15–0,32 Гц) [3, 4]. Рассчитывали абсолютную ($мс^2$) и относительную (%) мощность волн в каждом диапазоне, индекс централизации (отн. ед.) [1]: $IC = (LF + VLF)/HF$.

Математическую обработку результатов выполняли в программе Statistica 10.0 с применением t-теста для зависимых и независимых выборок.

Результаты и их обсуждение

В исходном состоянии у самцов крыс ЧСР колебалась на уровне 300–360 уд./мин, ИН — 12–30 отн. ед., мощность волн спектра ВСР регистрировалась в пределах ранее опубликованных данных ($5–20 мс^2$) [3, 4]. У большинства крыс HF-волны составляли 30–50%, а медленные волны LF и VLF — в совокупности 50–70% от общей мощности спектра, поэтому IC был выше 1 отн. ед. (табл. 1, 2).

В пробе с однократным введением ГМ в течение 10 мин ЧСР повысилась на 12% ($p < 0,01$). Одновременно ИН увеличился почти в 2,8 раза и стал значительно выше, чем у контрольных животных ($p < 0,001$) (табл. 1). Быстрое усиление ригидности ритма сердца крыс определялось весьма значительным ослаблением LF- и VLF-волн (в 3 раза, $p < 0,05$, и 6 раз, $p < 0,001$, соответственно), а также некоторым снижением мощности HF-волн (на 38%). В результате изменилось соотношение спектральных компонент: доля VLF сократилась до 18,3% ($p < 0,05$), а доля HF выросла до 67% ($p < 0,05$), IC снизился в 2,5 раза ($p < 0,01$). Иными словами, блокада вегетативных узлов с помощью ГМ вызвала снижение мощности волн низкочастотной части спектра, особенно VLF, в меньшей мере отразилась на волнах HF-диапазона (дыхательных волнах), что в совокупности обусловило значительный рост ригидности ритма сердца. Приведенные данные вполне согласуются с ранее опубликованными [3], следовательно, эффекты ГМ достаточно стабильны в отношении ВСР.

После введения АТ в течение первых 2–3 мин у животных ЧСР выросла почти на треть от исходной ($p < 0,001$) и превысила в покое 400 уд./мин, ИН увеличился в 11 раз ($p < 0,001$) (табл. 1). Кардиоинтервалограмма практически выровнялась, поскольку вариабельность кардиоинтервалов снизилась во всех спектральных диапазонах: LF — в 74 раза ($p < 0,001$), VLF — в 34 раза

Таблица 1. Изменения параметров ВСП крыс при после однократного введения блокаторов Н-ХР, М-ХР и β-АР, M±m
Table 1. Changes in the HRV parameters in rats after a single administration of N-ChR, M-ChR and β-AR Blockers, (M±m)

Показатели	Группы	Исходное состояние	После введения препарата
ЧСР, уд./мин	Контроль (n=16)	336,8±7,1	328,9±7,7
	Гексаметоний (n=12)	309,2±7,0	346,9±9,7**
	Атропин (n=10)	330,1±10,7	426,8±16,4***###
	Анаприлин (n=12)	355,1±16,4	263,4±11,0***###
ИН, отн. ед.	Контроль (n=16)	18,7±1,6	25,7±3,1
	Гексаметоний (n=12)	27,4±4,6	76,8±11,2***###
	Атропин (n=10)	23,1±3,2	256,5±41,9***###
	Анаприлин (n=12)	24,5±3,5	35,9±7,2
HF, мс ²	Контроль (n=16)	8,1±1,2	9,4±1,8
	Гексаметоний (n=12)	7,6±2,9	4,7±1,9
	Атропин (n=10)	8,5±1,9	0,5±0,1***#
	Анаприлин (n=12)	7,8±1,5	4,9±1,9
LF, мс ²	Контроль (n=16)	6,9±0,6	5,6±1,1
	Гексаметоний (n=12)	2,4±0,5	0,8±0,3***###
	Атропин (n=10)	7,4±1,2	0,1±0,03***#
	Анаприлин (n=12)	7,0±1,0	4,3±1,1
VLF, мс ²	Контроль (n=16)	6,2±0,5	5,8±0,9
	Гексаметоний (n=12)	4,2±0,7	0,7±0,1***###
	Атропин (n=10)	6,8±1,4	0,2±0,1***###
	Анаприлин (n=12)	8,6±1,5	2,6±0,9** (p<0,1#)
%HF	Контроль (n=16)	34,2±1,3	46,6±3,7
	Гексаметоний (n=12)	47,8±6,5	66,9±4,6**#
	Атропин (n=10)	40,2±5,5	65,2±4,2**#
	Анаприлин (n=12)	34,3±4,5	40,7±5,9
%LF	Контроль (n=16)	32,7±1,4	25,3±2,4 (p<0,1')
	Гексаметоний (n=12)	18,6±2,4	14,8±1,7##
	Атропин (n=10)	39,9±6,2	14,4±1,2***#
	Анаприлин (n=12)	29,5±2,1	36,7±4,6
%VLF	Контроль (n=16)	33,1±1,1	28,1±3,0
	Гексаметоний (n=12)	33,6±4,8	18,3±3,8*#
	Атропин (n=10)	37,9±5,8	20,4±3,9'
	Анаприлин (n=12)	36,2±4,4	22,6±3,2'
IC, отн. ед.	Контроль (n=16)	2,0±0,2	1,4±0,2
	Гексаметоний (n=12)	1,5±0,3	0,6±0,1***#
	Атропин (n=10)	2,5±0,6	0,6±0,1***#
	Анаприлин (n=12)	2,7±0,6	3,5±1,6

Примечание: достоверность различий рассчитана по t-критерию Стьюдента: * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001 — по сравнению с исходным состоянием; #, ##, ### — по сравнению с контролем.

Note: statistical significance was calculated by Student's t-test: * p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001 — in comparison with the initial state; #, ##, ### — in comparison with the control group.

(p<0,05), HF — в 17 раз (p<0,01). Мощности всех волн на фоне АТ не превышали 0,1–0,5 мс², причем наименьшие величины регистрировались в низкочастотной области спектра, несколько большей была мощность HF-волн (табл. 1). Соответственно,

в структуре спектра ВСП доля HF-волн достигла 65% от суммарной мощности, вклад медленных волн составил от 14 до 20%, IC стал ниже в 4,2 раза (p<0,05), что обычно расценивается как признак ослабления централизации управления ритмом сердца [1].

Таблица 2. Изменения параметров ВСП крыс при последовательной блокаде вегетативных узлов и периферических М-ХР и β-АР, M±m

Table 2. Changes in the HRV parameters under a sequential blockade of vegetative nodes and peripheral M-ChR and β-AR, M±m

Показатели	Группы	Исходное состояние	После введения гексаметония	После введения блокаторов на фоне гексаметония
ЧСР, уд./мин	Контроль (n=6)	302,5±3,7	354,9±7,1***	348,8±10,0***
	Атропин (n=6)	317,8±9,0	370,8±7,2**	433,2±11,0***,###
	Анаприлин (n=6)	297,0±5,4	318±8,6	313,0±11,9#
ИН, отн. ед.	Контроль (n=6)	22,4±2,3	83,2±9,0***	81,6±10,6***
	Атропин (n=6)	49,6±19,9	94,9±16,7	219,3±32,4***,###
	Анаприлин (n=6)	18,3±2,3	44,9±9,7 (p<0,1')	64,1±17,1 (p<0,1')
HF, мс ²	Контроль (n=6)	7,8±1,5	3,8±1,3	3,9±1,8
	Атропин (n=6)	6,9±2,6	2,1±0,7 (p<0,1')	1,0±0,2'
	Анаприлин (n=6)	9,4±4,3	8,4±3,3	11,7±5,7
LF, мс ²	Контроль (n=6)	7,8±1,9	0,7±0,2''	0,7±0,2''
	Атропин (n=6)	2,1±0,7	0,4±0,1	0,2±0,1
	Анаприлин (n=6)	3,0±0,2	1,4±0,4'	1,4±0,4'
VLF, мс ²	Контроль (n=6)	5,4±1,1	0,6±0,1	0,7±0,1
	Атропин (n=6)	2,8±0,8	0,4±0,2'	0,1±0,1''###
	Анаприлин (n=6)	5,7±0,6	0,9±0,1***	1,1±0,4***
%HF	Контроль (n=6)	38,2±4,8	67,9±4,2***	65,8±4,8***
	Атропин (n=6)	57,9±5,9	70,0±7,9	73,2±4,9
	Анаприлин (n=6)	41,3±8,3	68,6±4,8'	75,1±4,6***
%LF	Контроль (n=6)	33,9±4,3	14,0±1,3***	14,7±1,8***
	Атропин (n=6)	16,3±2,3	12,3±2,2	18,6±3,2
	Анаприлин (n=6)	20,9±3,3	16,8±2,2	14,2±2,0
%VLF	Контроль (n=6)	27,9±4,5	18,1±3,4	19,5±3,8
	Атропин (n=6)	25,8±5,3	17,7±6,7	8,2±2,2#
	Анаприлин (n=6)	37,7±5,4	14,6±3,5'	10,7±3,0***
IC, отн. ед.	Контроль (n=6)	1,9±0,4	0,6±0,1'	0,6±0,1'
	Атропин (n=6)	0,8±0,2	0,6±0,2	0,4±0,1
	Анаприлин (n=6)	1,9±0,4	0,5±0,1'	0,4±0,1'

Примечание: достоверность различий рассчитана по t-критерию Стьюдента: * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001 — по сравнению с исходным состоянием; +, ++, +++ — по сравнению с состоянием при блокаде Н-ХР гексаметонием в группах Атропин, Анаприлин; #, ##, ### — по сравнению с контролем.

Note: statistical significance was calculated by Student's t-test: * p<0.05, ** p<0.01; *** p<0.001 — in comparison with the initial state; +, ++, +++ — in comparison with a state following the blockade with N-ChR hexametonium in the groups Atropine, Anapriline; #, ##, ### — in comparison with the control group.

Т. е. эффекты АТ на ВСП сходны по характеру изменений с эффектами ГМ, но выражены значительно сильнее, распространяются на весь спектральный диапазон, включая HF-волны.

Введение блокатора β-АР АНП в течение 5–7 мин привело, как и ожидалось, к урежению ЧСР (на 25,8%, p<0,001) (табл. 1). Вариабельность кардиоинтервалов изменилась мало, но также в сторону снижения: ослабление мощности HF- и LF-волн

на 37–38% не достигло статистической значимости, и только в VLF-диапазоне произошло значительное снижение колебаний (в 3,3 раза, p<0,01). В связи с этим доля VLF-волн в спектре сократилась до 22–23% (p<0,05), а вклад HF- и LF-волн вырос, но незначительно, IC также изменился мало. Очевидно, в сравнении с блокаторами Н- и М-ХР блокатор β-АР вызвал наименее выраженные изменения ВСП, хотя снижение ЧСР оказалось весьма существенным.

Несмотря на урежение ЧСР, мощность волн при введении АНП также снизилась, особенно в VLF-диапазоне.

Таким образом, при разнонаправленном влиянии на ЧСР блокаторы Н-ХР, М-ХР и блокатор β -АР вызвали снижение вариабельности кардиоинтервалов, особенно сильно — в низкочастотных диапазонах (VLF, LF). HF-волны при блокаде вегетативных узлов и β -АР снижались в меньшей степени — всего на 30–40%, и только при блокаде М-ХР — на 95%. По выраженности эффектов в отношении мощности волн ВСР блокаторы можно расположить в следующем порядке: АТ>>ГМ>АНП. Выявленные изменения свидетельствуют об участии М-ХР и β -АР, локализованных в миокарде, и Н-ХР вегетативных узлов в формировании волн всех диапазонов спектра ВСР.

На втором этапе работы анализировались изменения ВСР при последовательном введении гексаметония и блокаторов М-ХР, β -АР (табл. 2). Как и в первой серии, введение ГМ привело к росту ЧСР на 7–16% ($p<0,01$) и ИН в 2–3,5 раза ($p<0,001$). При этом мощности волн спектра снизились: VLF — в 6–10 раз ($p<0,001$), LF — в 2–9 раз ($p<0,05$ — $p<0,001$), в меньшей мере — мощность HF-волн — на 10–60% от исходной. В результате у всех животных на фоне ГМ доля HF в спектре составляла 65–75%, а вклад LF и VLF не превышал 12–16 и 14–20% соответственно. IC был ниже 1 отн. ед. ($p<0,001$) из-за сниженной мощности медленных волн.

На фоне блокады вегетативных узлов введение АТ вызвало в течение первых 2–5 мин дальнейший рост ЧСР (еще на 16,8%, $p<0,001$), в результате она достигла 420–450 уд./мин, т. е. суммарный прирост ЧСР составил 36% от исходной ($p<0,001$). ИН после введения АТ увеличился еще в 2,3 раза ($p<0,01$) и превысил 200 отн. ед. в покое. Мощность волн ВСР продолжила снижение, хотя после введения

ГМ в LF и VLF-диапазонах она уже составляла не более 0,5 мс². Введение АТ ослабило мощность HF-волн в 2 раза ($p<0,1$), LF — в 2 раза и VLF — в 4 раза ($p<0,1$) от тех величин, которые были зарегистрированы на фоне блокады вегетативных узлов. В итоге последовательной блокады Н-ХР и М-ХР мощность HF-волн снизилась почти в 7 раз и находилась в пределах 1 мс², мощности LF- и VLF-волн сократились в 10 и 28 раз соответственно ($p<0,05$), а их абсолютные величины составляли всего 0,1–0,2 мс². Соответственно, доминирование HF-волн в спектре сохранилось и даже усилилось, а IC стал еще ниже (на 50%). Приведенные здесь данные вполне согласуются в ранее полученными [3], что подтверждает характер эффектов, оказываемых блокаторами ХР на ЧСР и мощность HF-, а также LF- и VLF-волн. Вместе с тем нужно отметить, что изменения ВСР после введения АТ на фоне блокады вегетативных узлов проявились не столь резко, остаточная мощность волн спектра ВСР была несколько выше, чем после введения только АТ (табл. 2, 3).

Введение блокатора β -АР на фоне блокады вегетативных узлов, вопреки ожиданиям, не привело к урежению ЧСР (табл. 2). Важно отметить, что после введения блокатора β -АР ни в одном из диапазонов спектра ВСР не отмечалось дальнейшего снижения мощности колебаний, в основном показатели оставались на уровне, зафиксированном после введения ГМ, только в диапазоне HF наблюдалось некоторое усиление вариабельности. По сравнению с контрольными животными, в организме которых основным действующим препаратом оставался ГМ, мощность HF-волн была выше почти втрое. По причине некоторого усиления HF-волн их доминирование в спектре ВСР стало еще значительнее (более 75%, $p<0,05$), а величины IC — ниже. Эти результаты свидетельствуют об изменении

Таблица 3. Степень отклонения мощностей волн от исходных значений при однократном и сочетанном введении блокаторов Н-ХР, М-ХР, β-АР

Table 3. Degree of deviation of the HRV wave power from the initial state under a single and sequential administration of N-ChR, M-ChR and β-AR blockers

Группы животных	Волны ВСР	После однократного введения блокаторов		После введения атропина и анаприлина на фоне гексаметония	
		снижение от исходной мощности спектра	остаточная мощность спектра	снижение от исходной мощности спектра	остаточная мощность спектра
Гексаметоний	HF	↓ 38%	62%		
	LF	↓ 67%*	33%		
	VLF	↓ 83%***	17%		
Атропин	HF	↓ 94,2%***	5,8%	↓ 85,5%*	14,5%
	LF	↓ 98,7%*	1,3%	↓ 90,5%	9,5%
	VLF	↓ 97,1%***	2,9%	↓ 96,4%*	3,6%
Анаприлин	HF	↓ 37%	63%	↑ 25%	125%
	LF	↓ 39%	61%	↓ 54%	46%
	VLF	↓ 70%***	30%	↓ 81%	19%

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ — по сравнению с исходным состоянием.

Note: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ — in comparison with the initial state.

эффектов блокатора β-АР не только в отношении мощности волн ВСР, но даже ЧСР, на фоне блокады Н-холинергической передачи в ганглиях.

Таким образом, предварительная блокада вегетативных узлов гексаметонием несколько модифицировала эффекты блокатора М-ХР и довольно существенно — действие блокатора β-АР на ЧСР и мощность волн ВСР. Результаты фармакологических проб позволяют говорить о том, что мощность всех волн спектра ВСР в наибольшей мере является результатом регуляторных влияний через систему М-ХР кардиомиоцитов, а также их взаимодействия с влияниями через АР миокарда и ганглионарный уровень вегетативной нервной системы.

Переходя к обсуждению результатов, можно еще раз сказать, что вопрос о физиологической природе и механизмах формирования волн ВСР сохраняет актуальность в связи с широкой востребованностью методов анализа ВСР в клинической и экспериментальной практике. В настоящей работе мы продолжили начатые ранее исследования в этом направлении [3, 4], сделав акцент на действии блокаторов Н-ХР, М-ХР и β-АР, используемых как в качестве

самостоятельных воздействий, так и в комбинации.

Выполненное исследование подтвердило, что введение ГМ в дозе, достаточной для блокады Н-холинорецепторов вегетативных узлов [3, 14, 18], потенцирует рост ЧСР и существенное ослабление вариабельности RR-интервалов во всех диапазонах спектра ВСР, особенно VLF и LF (на 83 и 67% соответственно, см. табл. 3). Эффекты ГМ выявляются достаточно стабильно, согласуются с результатами предыдущей работы [3]. Известно, что блокада Н-холинергической передачи ограничивает проведение сигналов и в симпатических, и в парасимпатических узлах — периферических нервных центрах, интегрирующих сигналы от рецепторов внутренних органов, др. рецептивных полей, а также от гемодинамического и др. центров и отделов мозга [12, 14, 18]. Поэтому снижение мощности волн можно рассматривать как проявление общего ослабления регуляторных влияний, которые обычно поступают к сердцу и др. органам через вегетативные ганглии. Важно отметить, что большая часть этих сигналов влияет на формирование VLF- и LF-колебаний спектра ВСР.

Ослабление HF-волн почти на 40% свидетельствует об участии Н-холинергической передачи в формировании дыхательных колебаний R-R-интервалов. Полагаем, с учетом предыдущих исследований [3], в норме примерно половина мощности дыхательных волн ВСР определяется сигналами, поступающими через вегетативные узлы, однако существенный вклад в мощность HF-волн вносят механизмы непосредственно на уровне сердца и кардиомиоцитов (внутрисердечные нервные механизмы). Подтверждением этому является стойкость умеренной тахикардии, возникающей после введения ГМ. Она, по-видимому, является реакцией на снижение артериального давления и поддерживается за счет вовлечения внутрисердечной нервной системы в контроль за работой сердца в условиях блокады потока сигналов через вегетативные узлы [12].

Изменения сердечного ритма после введения М-холиноблокатора АТ оказались весьма резкими и более значительными, чем после блокады Н-ХР. Рост ЧСР составил почти треть от исходной, мощность волн HF-волн снизилась на 94%, LF и VLF-волн — на 98–97% (табл. 3). Сходные данные по изменению мощности волн спектра ВСР после введения АТ приводятся и в др. работах [2, 4, 6, 7, 9, 13, 15]. Преобладание эффектов АТ над эффектами ГМ, по нашему мнению, имеет ряд причин: 1) М-ХР передают на клетки миокарда потоки сигналов, идущих не только со стороны ЦНС через вегетативные ганглии, но и от элементов внутрисердечной нервной системы; 2) АТ блокирует все подтипы миокардиальных М-ХР (M_1 – M_3) [12, 14], посредством которых холинергические механизмы оказывают ионо- и метаболитные эффекты на кардиомиоциты [12]. Полагаем, что этот фактор является определяющим в резком падении мощности всех волн спектра ВСР при атропиновой пробе; 3) АТ нарушает реципрокные взаимодействия на уровне

синаптических терминалей, мембранных рецепторов и внутриклеточных сигнальных каскадов в кардиомиоцитах [12, 14], вызывает резкий дисбаланс между холинергическими и адренергическими влияниями на пейсмекеры сердца с очевидным преобладанием адренергических. Кроме того, в одной из недавних работ [4] нами показано, что АТ уменьшает связывание адреналина эритроцитами крови, в свою очередь это способно привести к росту концентрации свободных катехоламинов в крови и усилению адренергических влияний на сердце через гуморальный канал регуляции.

На фоне блокады вегетативных узлов изменения ВСР после введения АТ в значительной мере были сходны с таковыми при его самостоятельном введении. В качестве особенностей можно отметить тот факт, что мощности волн HF и LF снизились в меньшей мере: на 85 и 90,5% соответственно (табл. 3). Абсолютные величины мощности HF-волн в этой серии находились в пределах 1 мс^2 , что почти вдвое выше, чем в серии с введением только АТ. Очевидно, блокада вегетативных узлов несколько уменьшает проявления вегетативного дисбаланса и резкого преобладания адренергических влияний, возникающего после введения АТ.

Исходя из выше сказанного, считаем, что основной причиной высокой воспроизводимости эффектов АТ в виде роста ЧСР и падения мощности всех волн ВСР на 95–98% является блокада всех подтипов М-ХР, локализованных в миокарде, а также достаточно малая зависимость его эффектов от состояния вегетативных узлов.

Введение блокатора β -АР на фоне естественного функционирования вегетативных узлов вызвало урежение ЧСР на четверть от исходной и некоторое ослабление колебаний в HF- и LF-диапазонах, существенное снижение только VLF-волн (на 70%, табл. 3). Такое снижение вариабельности кардиоинтервалов не совпадает с представ-

лениями о четком антагонизме холинергических и адренергических влияний на ритм сердца, при котором блокада β -АР должна приводить к повышению мощности волн из-за сдвига вегетативного баланса к преобладанию парасимпатических влияний, согласно [9, 13, 15]. Однако др. авторы [6, 7, 11, 16] также отмечали, что медленные волны изменяются весьма нестабильно при блокаде β -АР — возможен и рост, и снижение их мощности. Причиной таких неоднозначных результатов являются, по видимому, характерные черты организации адренергических влияний на миокард. Прежде всего, это касается адренорецепторного аппарата кардиомиоцитов. В миокарде присутствуют не только β_1 -АР, также α_1 -АР, β_2 -АР, рецепторы к серотонину, дофамину [5, 12, 14]. Поэтому блокада β -АР с помощью АНП не устраняет эффектов стимуляции α_1 -АР и рецепторов к др. моноаминам. Кроме того, влияния на сердце со стороны вегетативных узлов осуществляются не только через норадренергические, но и серотонинергические нейроны, активность которых при блокаде β -АР может усиливаться [5].

Подтверждением значимости функционирования вегетативных узлов для проявления эффектов блокады β -АР стали результаты комбинированной пробы с последовательным введением ГМ и АНП. Блокада β -АР в этом случае не вызвала урежения ЧСР и не снизила мощности волн и даже, напротив, потенцировала прирост мощности в диапазоне HF, что можно рассматривать как признак усиления холинергических влияний. Сопоставляя результаты двух серий экспериментов с введением АНП, можно прийти к заключению, что блокада вегетативных узлов ослабляет регуляторные влияния (адренергические, серотонинергические и др.), которые тормозят или маскируют проявление сдвига вегетативного баланса в сторону преобладания холинергических влияний, который ожидается при введении блокатора β -АР [6, 7, 13, 16].

С учетом полученных результатов и данных литературы считаем, что основными причинами нестабильной воспроизводимости эффектов в пробе с АНП в отношении волн ВСР является присутствие в миокарде, помимо β_1 -АР, также α_1 -АР и рецепторов к др. моноаминам, а также зависимость эффектов АНП от состояния вегетативных узлов, активность которых может компенсировать сдвиг вегетативного баланса и привести к снижению вариабельности R-R-интервалов одновременно с урежением ЧСР.

Выводы

1. Блокада Н-ХР вегетативных узлов повышает ЧСР, снижает мощность VLF- и LF-волн на 60–85%, HF-волн — на 40–50%, что демонстрирует существенную роль Н-холинергической передачи сигналов в формировании вариабельности кардиоинтервалов при условии нормального функционирования М-ХР и АР, локализованных в миокарде.
2. Блокада М-ХР кардиомиоцитов резко повышает ЧСР и на 95–98% снижает мощность волн всех спектральных диапазонов, что подтверждают ведущую роль системы М-ХР кардиомиоцитов в формировании волн всех частотных диапазонов спектра ВСР.
3. Введение блокатора β -АР снижает ЧСР и мощность волн ВСР, особенно VLF, такой эффект может быть результатом прямой блокады β -АР кардиомиоцитов либо результатом компенсаторного усиления адренергических влияний через др. АР миокарда или со стороны вегетативных узлов.
4. Блокада Н-ХР вегетативных узлов несколько ослабляет эффекты блокатора М-ХР, но весьма существенно отражается на эффектах блокатора β -АР в отношении волн ВСР и ЧСР. Следовательно, состояние вегетативных узлов имеет значение для выраженности и даже характера изменений хронотропной функции сердца при воздействии на М-ХР и АР миокарда, что важно

учитывать в экспериментальной практике и при физиологической интерпретации изменений волн ВСР.

Проведенные исследования дополняют представления о роли вегетативных нервных узлов, М-ХР и β -АР в формировании мощности волн основных диапазонов спектра ВСР. Это дает основание для уточнения и определенного пересмотра интерпретаций природы волн и теоретических основ ВСР. Результаты, полученные с применением

блокатора β -АР, не позволяют утверждать, что этот канал адренергических влияний отвечает за формирование низкочастотных волн ВСР. Следовательно, использование мощности этих волн для оценки тонуса симпатического канала регуляции не имеет достаточных оснований. Также результаты работы позволяют определить дальнейшие направления исследований для решения вопроса о роли вегетативных нервных механизмов в формировании волн ВСР.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Баевский Р.М., Иванов Г.Г., Чирейкин Л.В. Гаврилушкин А.П., Довгалецкий П.Я., Кукушкин Ю.А., и др. Анализ вариабельности сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем (методические рекомендации). *Вестник аритмологии*. 2002;24:65–87. [Baevskiy R.M., Ivanov G.G., Chireykin L.V., Gavrilushkin A.P., Dovgaleckiy P.Ya., Kukushkin Yu.A., et al. Analiz variabelnosti serdechnogo ritma pri ispolzovanii razlichnykh elektrokardiograficheskikh sistem (metodicheskie rekomendacii) [Analysis of heart rate variability using different electrocardiographic systems (guidelines)]. *Vestnik aritmologii [Journal of Arrhythmology]*. 2002;24:65–87. (In Russian)].
2. Кириллина Т.Н., Усачева М.А., Белкина Л.М. Особенности нейровегетативной регуляции у крыс с разной устойчивостью к стрессу, оцениваемые по вариабельности параметров гемодинамики. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2006;142(10):376–381. [Kirillina T.N., Usacheva M.A., Belkina L.M. Osobennosti nejrovegetativnoj regulyacii u kryss s raznoj ustojchivostyu k stressu, ocenivaemye po variabelnosti parametrov gemodinamiki [Features of autonomic regulation in rats with different resistance to stress, measured by the variability of hemodynamic parameters]. *Byulleten ehksperimentalnoy biologii i mediciny [Bulletin of Experim. Biology and Medicine]*. 2006;142(10):376–381. (In Russian)].
3. Курьянова Е.В., Жукова Ю.Д., Трясучев А.В., Горст Н.А. Влияние скополамина, галантамина и их сочетаний с гексаметонием и атропином на спектральные характеристики сердечного ритма нелинейных крыс. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2016;36(3):5–12. [Kuryanova E.V., Zhukova Yu.D., Tryasuchev A.V., Gorst N.A. Vliyanie skopolamina, galantamina i ih sochetanii s geksametoniem i atropinom na spektralnye karakteristiki serdechnogo ritma nelineynykh kryss [Effect of scopolamine, galantamine, and their combinations with hexametonium and atropine on the spectral characteristics of the heart rhythm of nonlinear rats]. *Sibirskiy nauchnyy medicinskiy zhurnal [The Siberian Scientific Medical Journal]*. 2016;36(3):5–12. (In Russian)].
4. Курьянова Е.В., Трясучев А.В., Ступин В.О., Теплый Д.Л. Влияние атропина на адренореактивность эритроцитов крови и вариабельность сердечного ритма нелинейных крыс со стимуляцией центральных нейромедиаторных систем. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018;165(5):536–540. [Kuryanova E.V., Tryasuchev A.V., Stupin V.O., Teply D.L. Vliyanie atropina na adrenoaktivnost' ehritrocitov krovi i variabel'nost' serdechnogo ritma nelineynykh kryss so stimulyaciey central'nykh neyro-mediatornykh sistem [Effect of atropine on the adreno-reactivity of red blood cells and heart rate variability of nonlinear rats with stimulation of central neurotransmitter systems]. *Byulleten ehksperimentalnoy biologii i mediciny [Bulletin of Experim. Biology and Medicine]*. 2018;165(5):536–540. (In Russian)].
5. Лычкова А.Э. Серотонинергическая регуляция сердечно-сосудистой и бронхолегочной систем. М.: Изд. РАМН, 2012. 488 с. [Lychkova A.E. *Serotoninergicheskaya regulyaciya serdechno-sosudistoy i bronholegocnoy sistem [Serotonergic regulation of the cardiovascular and bronchopulmonary systems]*. Moscow: RAMS Publ., 2012. 488 p. (In Russian)].
6. Сергеева О.В., Алипов Н.Н., Смирнов В.М. Влияние атропина, пропранолола и ателолола на волновую структуру колебаний ритма сердца у крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2008;145(4):364–367. [Sergeeva O.V., Ali-pov N.N., Smirnov V.M. Vliyanie atropina, propranolola i atenolola na volnovuyu strukturu kolebaniy ritma serdca u kryss [Effect of atropine, propranolol and atenolol on the wave structure of heart rate fluctuations in rats]. *Byulleten ehksperimentalnoy biologii i mediciny [Bulletin of Experim. Biology and Medicine]*. 2008;145(4):364–367. (In Russian)].
7. Сергеева О.В., Акимова И.А., Антонов И.С., Лузина Л.С., Алипов Н.Н., Кузнецова Т.Е. Влияние адrenoблокаторов на медленные (LF) волны ритма

- сердца у кроликов. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2014;157(3):268–271. [Sergeeva O.V., Akimova I.A., Antonov I.S., Luzina L.S., Alipov N.N., Kuznecova T.E. Vliyanie adrenoblokatorov na medlennye (LF) volny ritma serdca u krolikov [The effect of adrenergic blockers on slow (LF) heart rhythm waves in rabbits]. *Byulleten ehksperimental'noy biologii i mediciny [Bulletin of Experim. Biology and Medicine]*. 2014;157(3):268–271. (In Russian)].
8. Elghozi J.L., Julien C. Sympathetic control of short-term heart rate variability and its pharmacological modulation. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2007;21(4):337–347.
 9. Fontollet T., Pichot V., Bringard A., Fagoni N., Adami A., Tam E., et al. Testing the vagal withdrawal hypothesis during light exercise under autonomic blockade: a heart rate variability study. *J. Appl. Physiol.* 2018;6:1804–1811.
 10. Garabedian C., Champion C., Servan-Schreiber E., Butruille L. E. Aubry, Sharma D., et al. A new analysis of heart rate variability in the assessment of fetal parasympathetic activity: An experimental study in a fetal sheep model. *PLoS One*. 2017;12(7):e0180653.
 11. Goldstein D.S., Benthoo O., Park M.Y., Sharabi Y. LF power of heart rate variability is not a measure of cardiac sympathetic tone but may be a measure of modulation of cardiac autonomic outflows by baroreflexes. *Exp. Physiol.* 2011;96:1255–1261.
 12. Gordan R., Gwathmey J.K., Xie L.H. Autonomic and endocrine control of cardiovascular function. *World J. Cardiol.* 2015;7(4):204–214.
 13. Henze M., Tiniakov R., Samarel A., Holmes E., Scrogin K. Chronic fluoxetine reduces autonomic control of cardiac rhythms in rats with congestive heart failure. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2013;304(3):H444–H454.
 14. Katzung B.G., Masters S.B., Trevor A.J. *Basic and Clinical Pharmacology*. McGraw-Hill Companies Inc., 2012. 1245 p.
 15. Mestivier D., Dabiré H., Chau N.P. Effects of autonomic blockers on linear and nonlinear indexes of blood pressure and heart rate in SHR. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2001;281(3):H1113–H1121.
 16. Rahman F., Pechnik S., Gross D., Sewell L., Goldstein D.S. LF power reflects baroreflex function, not cardiac sympathetic innervation. *Clin. Auton. Res.* 2011;21:133–141.
 17. Taylor J.A., Myers C.W., Halliwill J.R., Seidel H., Eckberg D.L. Sympathetic restraint of respiratory sinus arrhythmia: implications for vagal-cardiac tone assessment in humans. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2001;280(6):H2804–H2814.
 18. Zhang R., Iwasaki K., Zuckerman J.H., Behbehani K. Mechanism of blood pressure and R-R variability: insights from ganglion blockade in humans. *J. Physiol.* 2002;543(1):337–348.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Курьянова Евгения Владимировна*, д.б.н., проф., ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет»;
e-mail: fyzevk@rambler.ru

Evgeniya V. Kuryanova*, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Astrakhan State University;
e-mail: fyzevk@rambler.ru

Трясучев Андрей Валерьевич, к.б.н., доц., ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет»;
e-mail: tryandval@mail.ru

Andrey V. Tryasuchev, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Astrakhan State University;
e-mail: tryandval@mail.ru

Ступин Виктор Олегович, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет»;
e-mail: neverforgettoday@bk.ru

Victor O. Stupin, Astrakhan State University;
e-mail: neverforgettoday@bk.ru

Жукова Юлия Дмитриевна, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет»;
e-mail: iuliya.zhukova@yandex.ru

Yuliya D. Zhukova, Astrakhan State University;
e-mail: iuliya.zhukova@yandex.ru

Горст Нина Александровна, д.б.н., проф., ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет»;
e-mail: nagorst@mail.ru

Nina A. Gorst, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Astrakhan State University;
e-mail: nagorst@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-71-77>



ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИЙ МИТОХОНДРИЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Н. Е. Максимович, Е. И. Бонь*, И. К. Дремза

УО «Гродненский государственный медицинский университет»
230009, Республика Беларусь, Гродно, ул. Горького, д. 80

Митохондрии играют ключевую роль в жизнедеятельности клетки. Наиболее характерной их особенностью является наличие большого числа ферментов, участвующих в окислительном фосфорилировании и снабжении клетки энергией. Кроме того, митохондрии участвуют в хранении и передаче наследственной информации, апоптозе и пластических процессах. Нарушением функций митохондрий сопровождается любое заболевание, поэтому дальнейшее исследование функциональных особенностей митохондрий при различной патологии в клинике и эксперименте, а также поиск новых диагностических маркеров перспективны и актуальны.

Ключевые слова: митохондрии, метаболизм, экспериментальное изучение

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Максимович Н.Е., Бонь Е.И., Дремза И.К. Изучение функций митохондрий в эксперименте. *Биомедицина*. 2019;15(3):71–77. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-71-77>

Поступила 16.05.2019

Принята после доработки 08.08.2019

Опубликована 10.09.2019

RESEARCH INTO THE FUNCTIONS OF MITOCHONDRIA IN EXPERIMENT

Nataliya Ye. Maksimovich, Elizaveta I. Bon*, Iosif K. Dremza

Grodno State Medical University
230009, Republic of Belarus, Grodno, Gorkogo str., 80

Mitochondria play a key role in the life of any cell. The most characteristic feature of mitochondria is the presence of a large number of enzymes involved in oxidative phosphorylation and the supply of a cell with energy. In addition, mitochondria participate in the storage and transmission of hereditary information, as well as in apoptosis and plastic processes. Any disease is associated with violation of the mitochondrion functions; therefore, research into the functional characteristics of mitochondria in various pathologies under clinical and experimental conditions, as well as a search for new diagnostic markers seem to be a promising and relevant task.

Keywords: mitochondria, metabolism, experimental study

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Maksimovich N.Ye., Bon E.I., Dremza I.K. Research into the Functions of Mitochondria in Experiment. *Journal Biomed*. 2019;15(3):71–77. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-71-77>

Submitted 16.05.2019

Revised 08.08.2019

Published 10.09.2019

Митохондрии играют ключевую роль в жизнедеятельности клетки. Наиболее характерной их особенностью является наличие большого числа ферментов, участвующих в окислительном фосфорилировании и снабжении клетки энергией. Кроме того, митохондрии участвуют в хранении и передаче наследственной информации, апоптозе и пластических процессах [7, 21, 24].

Цель данного обзора — обобщение и систематизация данных литературы о морфофункциональных характеристиках митохондрий и методиках изучения их в эксперименте.

Митохондрии — очень подвижные и пластичные органеллы, которые постоянно изменяют свою форму и сливаются друг с другом, а затем вновь разделяются. Перемещение митохондрий в цитоплазме связано с микротрубочками, что определяет их ориентацию и распределение в клетке [4].

Каждая митохондрия содержит высокоспециализированные мембраны, играющие ключевую роль в ее активности. Мембраны образуют два изолированных митохондриальных компартмента: внутренний матрикс и узкое межмембранное пространство. Каждый отдел содержит уникальный набор белков [11].

В состав наружной мембраны входит белок порин, который образует широкие гидрофильные каналы в липидном бислое, в результате чего мембрана напоминает сито, проницаемое для всех молекул массой менее 10 кДа.

Основная функциональная часть митохондрии — матрикс и окружающая его внутренняя мембрана. Внутренняя мембрана содержит большое количество «двойного» фосфолипида кардиолипина, что обеспечивает ее непроницаемость для ионов, и отличается необычно высоким содержанием белка. Многие из белков являются компонентами электронтранспортной цепи, поддерживающей протонный градиент

на мембране. Другой большой белковый комплекс — фермент АТФ-синтаза, катализирующий синтез АТФ, через который протоны возвращаются в матрикс по электрохимическому градиенту [15, 26]. Внутренняя мембрана образует в матриксе митохондрий сложную систему складок — крист, которые значительно увеличивают ее площадь. Кристам митохондрий в различных клетках свойственны морфологические особенности и различный состав ферментов. Во внутреннюю митохондриальную мембрану встроены ферменты дыхательной цепи, необходимые для процесса окислительного фосфорилирования, образующего основную часть АТФ, и транспортные белки, обуславливающие ее избирательную проницаемость [26].

Матрикс митохондрий имеет более вязкую консистенцию по сравнению с цитоплазмой клетки. В нем находятся ферменты, митохондриальная ДНК, рибосомы, органические соединения, ионы, в т. ч. кальция и магния. Ферменты матрикса участвуют в цикле Кребса, окислительном фосфорилировании, окислении пирувата и бета-окислении жирных кислот [21, 24].

Митохондриальная ДНК (мтДНК) содержит от двух до десяти идентичных кольцевых копий, отличных от кодирующих последовательностей универсальной ядерной ДНК. Митохондриальная ДНК кодирует рРНК, тРНК и субъединицы ферментов дыхательной цепи. Под контролем митохондриального генома кодируются семь субъединиц АТФ-синтазы, три субъединицы цитохромоксидазы и одна субъединица убихинон-цитохром-с-редуктазы [4, 24].

Выделяют т. н. «митохондриальные болезни», связанные с генетическими, структурными, биохимическими дефектами митохондрий, в т. ч. приводящими к энергодифициту клеток. Митохондриальные болезни передаются по женской линии, т. к. только яйцеклетка содержит митохондрии. Митохондриальная болезнь начинается про-

являться в тот момент, когда большее число митохондрий значительного количества клеток данной ткани приобретают мутантные копии ДНК (пороговая экспрессия). Известны наследственные митохондриальные заболевания, связанные с мутациями генов, кодирующих синтез митохондриальных белков, — синдром Барта, синдром Кернса — Сейра, синдром Пирсона и др. Существуют наследственные болезни, связанные с патологией энергоснабжения клетки, — болезни соединительной ткани, синдром хронической усталости, гликогеноз, кардиомиопатия, мигрень, печеночная недостаточность, панцитопения, гипопаратиреоз, диабет, рахит и др. К наследственным митохондриальным болезням, связанным с нарушением энергетики клетки, относится дефицит цитохрома с (синдром Лея), MELAS и др. [9, 24].

В митохондриях протекает окислительный метаболизм, субстратом для которого служат главным образом жирные кислоты и пируват, образуемый в результате гликолиза в цитозоле. Т. к. большое количество высвобождаемой энергии используется ферментами внутренней мембраны для образования АТФ из АДФ, эти реакции называют окислительным фосфорилированием [2, 6, 14]. При прохождении электронов по дыхательной цепи происходит их «откачивание» из матрикса. АТФ-синтаза использует энергию гидролиза АТФ для переноса H^+ через мембрану, а при достаточно большом протонном градиенте протоны начинают «течь» через фермент в обратном направлении, что сопровождается синтезом АТФ [10].

Таким образом, митохондрии осуществляют большую часть клеточных процессов окисления и производят почти весь АТФ животной клетки [20, 25]. Синтез АТФ — не единственный процесс, идущий за счет энергии электрохимического градиента. В матриксе, где находятся ферменты, участвующие в цикле Кребса и др. метаболических реакциях, необходимо поддерживать

высокие концентрации различных субстратов, которые перекачивают против электрохимических градиентов встроенные в мембрану белки-переносчики [2, 6, 21].

Одна из функций митохондрий — участие в образовании активных форм кислорода (АФК). Известно, что 1–2% электронов при их переносе в дыхательной цепи идет на образование супероксид-аниона, который впоследствии преобразуется в пероксид водорода (H_2O_2) и гидроксильный радикал ($OH\cdot$). В норме АФК принадлежит роль мессенджеров, они поддерживают редокс-состояние клетки, участвуя в регуляции ее функциональной активности. Избыточной наработке АФК способствует несоответствие доноров и акцепторов (O_2) электронов в дыхательной цепи, причиной чего является как дефицит O_2 (гипоксия), так и его избыток, возникающий вследствие реоксигенации при восстановлении кровотока в ранее ишемизированной ткани. Окислительный стресс может являться важным звеном патогенеза заболеваний гипоксического и реперфузионного генеза [18, 21].

Еще одна из функций митохондрий — участие в апоптозе. Ряд факторов способствует запуску митохондриального (внутреннего) пути апоптоза: гипоксия, дефицит факторов роста, увеличение в клетке АФК, необратимые повреждения ДНК и др. Митохондриальный путь апоптоза регулируется белками семейства Bcl-2, которые делятся на два класса. Белки первого класса ингибируют апоптоз. Они погружены в наружную мембрану митохондрий и регулируют проницаемость мембраны, а также уменьшают образование АФК. Представителями этого класса являются Bcl-2 и Bcl-XL. Белки второго класса семейства Bcl-2 стимулируют развитие апоптоза. Они находятся в цитозоле, но после активации перемещаются к мембране митохондрий, где взаимодействуют с представителями первого класса семейства Bcl-2

с последующим ингибированием их функции. Представителями второго класса семейства Bcl-2 являются Bid, Bad, Bax и др. Активация белков второго класса семейства Bcl-2 вызывает повышение проницаемости внутренней мембраны митохондрии, вследствие чего происходит набухание матрикса митохондрии и разрыв наружной мембраны, меньшей по площади, чем внутренняя. При этом в мембране митохондрии образуется неселективный канал, увеличивающий ее проницаемость, что приводит к высвобождению цитохрома с и белка SMAC (second mitochondria-derived activator of caspase), или Smac/Diablo, из митохондрий в цитозоль. Поступивший в цитозоль цитохром с взаимодействует с белком Araf-1 (Apoptotic protease activating factor-1) и привлекает каспазу-9, формируя при этом комплекс протеинов — апоптосому. В присутствии АТФ происходит активация каспазы-9, которая активирует каспазу-3, расщепляющую протеин цитоплазмы Bid, который после встраивания в мембрану митохондрии активирует каспазы 6 и 7. Белок SMAC, освободившийся из митохондрии, инактивирует белки-ингибиторы апоптоза IAP (inhibitors of apoptosis), способствуя его активации. При повреждении митохондрий происходит нарушение синтеза АТФ, избыточное образование АФК, запуск апоптоза, повышается содержание Ca^{2+} в клетке с последующей активацией Ca^{2+} -зависимых ферментов (фосфолипаз, протеиназ, АТФ-аз, эндонуклеаз). Это приводит к деградации фосфолипидов, разрушению цитоскелета и клеточных мембран, дефициту энергии и фрагментации хроматина клеточного ядра [8, 30].

Существует ряд молекулярных маркеров, использование которых позволяет детально изучить активность митохондрий при различных экспериментальных воздействиях. Известно около тысячи митохондриальных маркеров, но в настоящем обзоре представлены основные.

Маркеры нарушений энергетической функции митохондрий

АТФ-synthase. Принадлежит семейству α/β АТФ-синтаз. Фермент состоит из двух структурных доменов (F_1 — внемембранный катализатор и F_0 — протонный канал мембраны), соединенных центральным стержнем. Центральным стержнем митохондриальной АТФ-синтазы состоит из субъединиц γ , δ и ϵ и вместе с олигомером мембранной субъединицы представляет собой роторный домен фермента. Предполагается, что функция ϵ -субъединицы состоит в сборке остальных доменов фермента. Мутация или дефицит данной субъединицы снижает активность АТФ-синтазы. Изучение генов, необходимых для дифференцировки стволовых клеток, выявило важную роль митохондриальной АТФ-синтазы в этом процессе. АТФ-синтаза способствует созреванию крист митохондрий во время дифференцировки путем димеризации и специфической регуляции АТФ-синтазного комплекса. Существует две разновидности АТФ-синтазы — α и β [3, 17, 27].

SDHA (Succinate dehydrogenase complex, subunit A). Принадлежит к семейству оксидоредуктаз. Является субъединицей фермента сукцинатдегидрогеназы, которая является комплексом II митохондриальной электронтранспортной цепи, осуществляя перенос электронов от сукцината на убинон (коэнзим Q) [1].

Рекомбинантный белок COX7A2L (Cytochrome c oxidase subunit 7A-related protein). Принадлежит к семейству цитохром с оксидазы VIIa. Предполагаемая функция — регуляция активности цитохром с оксидазы [22, 23, 33].

COX_{IV} (Cytochrome c oxidase subunit 4) — белок, который является одной из полипептидных цепей цитохромоксидазы, участвует в переносе электронов в митохондриях. Принадлежит к семейству оксидазы IV цитохрома с. Характеризует эффективность цепи тканевого дыхания [19, 31].

MTc1 (Mitochondrially encoded cytochrome c oxidase I). Принадлежит к семейству гем-медных дыхательных оксидаз. Цитохромоксид-оксидаза является компонентом дыхательной цепи, которая катализирует восстановление кислорода. Субъединицы 1–3 образуют функциональное ядро ферментного комплекса. Cytochrome c oxidase I является каталитической субъединицей фермента окислительного фосфорилирования [21].

HADHA (Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase trifunctional multienzyme complex subunit alpha). Относится к семейству 3-гидроксиацил-CoA-дегидрогеназ. Является субъединицей фермента, участвующего в β -окислении жирных кислот. Мутации в генах HADHA вызывают редкое аутосомно-рецессивное метаболическое расстройство, характеризующееся снижением активности митохондриального β -окисления жирных кислот [13].

Маркеры митохондриального пути апоптоза

VDAC₁ (Voltage-dependent anion-selective channel 1)/Porin. Белок принадлежит к семейству поринов. Обеспечивает диффузию гидрофильных молекул, участвует в регуляции объема митохондрий при апоптозе. Способствует формированию пор в наружной митохондриальной мембране при апоптозе [28, 34].

AIF (Апоптоз-индуцирующий фактор) принадлежит к FAD-зависимому семейству оксидоредуктаз. Является оксидоредуктазой, которая играет двойную роль в контроле клеточного цикла. Во время апоптоза транслоцируется из митохондрий в ядро, где функционирует как проапоптотический фактор в каспаз-независимом пути, тогда как в обычных условиях функционирует как антиапоптотический фактор посредством оксидоредуктазной активности. Растворимая форма (AIFsol), обнаруженная в ядре, индуцирует независимую от кас-

пазы фрагментацию хромосомной ДНК, а также активирует каспазу-7 для активации апоптоза. Играет важную роль в каспазно-независимой пикнотической гибели клеток, индуцированной перекисью водорода [8, 30].

Маркеры пластических процессов митохондрий

Hexokinase 1 — белок, принадлежащий к семейству гексокиназ. Участвует в регуляции углеводного обмена и метаболизма гексозы. Содержит 2 домена — N и C. С доменом C связана каталитическая активность, а с N-доменом — регуляторная [12, 32].

Hsp60 (Heat shock protein), или белок теплового шока, принадлежит к семейству шаперонов (Hsp60), играющих большую роль в реализации адаптивных механизмов клетки при повреждении. Участвует в транспорте митохондриальных белков, сборке макромолекул и созревании полипептидов, образующихся в митохондриальном матриксе [21, 29].

TOMM20 (Translocase of outer mitochondrial membrane 20) функционирует как транзитный пептидный рецептор на поверхности наружной мембраны митохондрии, облегчая транслокацию синтезированных митохондриальных препротейнов в цитозоле [16].

Prohibitin ингибирует синтез ДНК, возможно участвует в регуляции активности митохондриального дыхания. Существует предположение, что этот белок играет роль в активации мРНК. Мембранный prohibitin регулирует клеточную передачу сигналов мембранного транспорта, ядерный prohibitin контролирует активацию транскрипции и клеточный цикл, митохондриальный prohibitin-комплекс стабилизируют митохондриальный геном и модулируют митохондриальный внутренний апоптотический путь. Кроме того, prohibitin может транслоцироваться в ядро или митохондрии при апоптозе [1, 21].

Frataxin. Принадлежит к семейству фратаксинов — белков, играющих важную роль в выведении железа из околомитохондриального пространства. Способствует биосинтезу гема и сборке кластеров железа и серы путем доставки ионов железа к белку. Играет роль в защите от окислительного стресса благодаря способности катализировать окисление Fe^{2+} до Fe^{3+} . Обладает спо-

собностью хранить большое количество железа в виде ферригидритного минерала [5].

Нарушением функций митохондрий сопровождается любое заболевание, поэтому дальнейшее исследование функциональных особенностей митохондрий при различной патологии в клинике и эксперименте, а также поиск новых диагностических маркеров перспективны и актуальны.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Baertling F. NDUFA9 point mutations cause a variable mitochondrial complex I assembly defect. *Clinical Genet.* 2018;93:111–118.
- Boumans H., Grivell L.A., Berden J.A. The respiratory chain in yeast behaves as a single functional unit. *J. Biol. Chem.* 1998;273:4872–4877.
- Boyer P.D. ATP synthase — past and future. *Biochim. Biophys. Acta.* 1998;1365:3–9.
- Brand M.D., Murphy M.P. Control of electron flux through the respiratory chain in mitochondria and cells. *Biological Review.* 1987;62:141–193.
- Britti E. Frataxin-deficient neurons and mice models of Friedreich ataxia are improved by TAT-MTScs-FXN treatment. *J. Cell Mol. Med.* 2018;22:834–848.
- Capaldi R.A., Darley-Usmar V., Fuller S., Millet F. Structural and functional features of the interaction of cytochrome c with complex III and cytochrome c oxidase. *FEBS Letters.* 1982;138:1–7.
- Casey R.P. Membrane reconstruction of the energy-conserving enzymes of oxidative phosphorylation. *Biochemistry Acta.* 1984;768:319–347.
- Chao D.T., Korsmeyer S.J. BCL-2 family: regulators of cell death. *Annu. Rev. Immunol.* 1998;16:395–419.
- Chen X., Lu J. Analysis of mitochondrial gene mutations in a child with Leigh syndrome. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 2019;36(4):318–321.
- DePierre J.W., Ernster L. Enzyme topology of intracellular membranes. *Review Biochemistry.* 1988;46:201–261.
- Hackenbrock C.R. Lateral diffusion and electron transfer in the mitochondrial inner membrane. *Trends Biochemistry.* 1981;15:151–154.
- Hauser D.N. Hexokinases link DJ-1 to the PINK1/parkin pathway. *Mol. Neurodegener.* 2017;12:70–77.
- Hoffmann C. The effect of differentiation and TGF β on mitochondrial respiration and mitochondrial enzyme abundance in cultured primary human skeletal muscle cells. *Science Report.* 2018;8:737–740.
- Klincyberg M. Principles of carrier catalysis elucidated by comparing two similar membrane translocators from mitochondria, the ADP/ATP carrier and the uncoupling protein. *New York Academic Science.* 1985;456:279–288.
- Magnoni R. The Hsp60 folding machinery is crucial for manganese superoxide dismutase folding and function. *Free Radic Res.* 2014;48:168–179.
- Mikkilineni L., Whitaker-Menezes D., Domingo-Vidal M., Spradno J. Hodgkin lymphoma: A complex metabolic ecosystem with glycolytic reprogramming of the tumor microenvironment. *Semin Oncol.* 2017;44:218–225.
- Pecina P., Nůšková H., Karbanová V., Kaplanová V., Mráček T., Houštek J. Role of the mitochondrial ATP synthase central stalk subunits γ and δ in the activity and assembly of the mammalian enzyme. *Acta Bioenergetics.* 2018;1859(5):374–381.
- Prison M. The curious case of peroxiredoxin-5: what its absence in aves can tell us and how it can be used. *BMC Evolution Biology.* 2018;18:18–22.
- Powell K.A., Davies J.R., Taylor E., Wride M.A., Votruba M. Mitochondrial localization and ocular expression of mutant Opa3 in a mouse model of 3-methylglutaconicaciduria type III. *Invest Ophthalmology Vis Science.* 2011;52(7):4369–4380.
- Prince R.C. The proton pump of cytochrome oxidase. *Trends Biochemistry Science.* 1988;13:159–160.
- Sas K., Robotka H., Toldi J., Vécsei L. Mitochondria, metabolic disturbances, oxidative stress and the kynurenine system, with focus on neurodegenerative disorders. *J. Neurol. Sci.* 2007;15:221–239.
- Serricchio M., Vissa A., Kim P.K., Yip C.M., McQuibban G.A. Cardiolipin synthesizing enzymes form a complex that interacts with cardiolipin-dependent membrane organizing proteins. *Acta Molecular Cell Biology Lipids.* 2018;4:447–457.
- Shiba S., Ikeda K., Horie-Inoue K., Nakayama A., Tanaka T., Inoue S. Deficiency of COX7RP, a mitochondrial supercomplex assembly promoting factor, lowers blood glucose level in mice. *Sci. Rep.* 2017;7:7606–7610.
- Silva S., Ghiarone T., Schreiber K., Grant D., White T., Frisard M., et al. Angiotensin II suppresses autophagy and disrupts the ultrastructural morphology and function of mitochondria in mouse skeletal muscle. *J. Appl Physiol.* 2019;12:34–42.

25. Slater E.C. The Q Cycle, an ubiquitous mechanism of electron transfer. *Trends Biochemistry Science*. 1983;8:239–242.
26. Srere P.A. The structure of the mitochondrial inner membrane-matrix compartment. *Trends Biochemistry Science*. 1982;7:375–378.
27. Teixeira F.K., Sanchez C.G., Hurd T.R., Seifert J.R., Czech B., Preall J.B., et al. ATP synthase promotes germ cell differentiation independent of oxidative phosphorylation. *Natural Cell Biology*. 2015;17(5):689–696.
28. Thorwald M. Angiotensin receptor blockade improves cardiac mitochondrial activity in response to an acute glucose load in obese insulin resistant rats. *Redox Biol*. 2018;14:371–378.
29. van Eden W., Jansen M., Ludwig I., Leufkens P. Heat Shock Proteins Can Be Surrogate Autoantigens for Induction of Antigen Specific Therapeutic Tolerance in Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol*. 2019;10:279–284.
30. Veis D.J., Sorenson C.M., Shutter J.R., Korsmeyer S.J. Bcl-2-deficient mice demonstrate fulminant lymphoid apoptosis, polycystic kidneys, and hypopigmented hair. *Cell*. 1993;75:229–240.
31. Wallace L., Cherian A., Adamson P. Comparison of Pre- and Post-translational Expressions of COXIV-1 and MT-ATPase 6 Genes in Colorectal Adenoma-Carcinoma Tissues. *J. Carcinog Mutagen*. 2018;9:319–324.
32. Zawislak A. Neuron-derived transthyretin modulates astrocytic glycolysis in hormone-independent manner. *Oncotarget*. 2017;8:106–118.
33. Zhang K., Wang G., Zhang X. COX7AR is a Stress-inducible Mitochondrial COX Subunit that Promotes Breast Cancer Malignancy. *Sci. Rep*. 2016;6:31–36.
34. Zhang X., Zhao X., Li Y., Zhou Y., Zhang Z. Long noncoding RNA SOX21-AS1 promotes cervical cancer progression by competitively sponging miR-7/VDAC1. *J. Cell Physiol*. 2019;25:56–67.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Максимович Наталия Евгеньевна, д.м.н., проф., УО «Гродненский государственный медицинский университет»;
e-mail: mne@grsmu.by

Nataliya Ye. Maksimovich, Dr. Sci. (Med.), Prof., Grodno State Medical University;
e-mail: mne@grsmu.by

Бонь Елизавета Игоревна*, к.б.н., УО «Гродненский государственный медицинский университет»;
e-mail: asphodela@list.ru

Elizaveta I. Bon*, Cand. Sci. (Biol.), Grodno State Medical University;
e-mail: asphodela@list.ru

Дремза Иосиф Карлович, к.б.н., доц., УО «Гродненский государственный медицинский университет»;
e-mail: idremza@rambler.ru

Iosif K. Dremza, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Grodno State Medical University;
e-mail: idremza@rambler.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ НОВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРОТЕЗА СТЕКЛОВИДНОГО ТЕЛА «ВИТРЕОЛОН» В СРАВНЕНИИ С СИЛИКОНОВЫМ МАСЛОМ ПРИ СМОДЕЛИРОВАННОЙ ОТСЛОЙКЕ СЕТЧАТКИ У КРОЛИКОВ

И. Б. Алексеев¹, А. Р. Коригодский², Е. Н. Иомдина³, А. А. Федоров⁴, В. Е. Белкин^{5,*},
А. И. Самойленко⁵, Ю. К. Барышева⁶

¹ ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия
непрерывного профессионального образования» Минздрава России
125993, Российская Федерация, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

² ООО «ХАЙБИТЕК»
129110, Российская Федерация, Москва, просп. Мира, д. 44, стр. 1

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца»
Минздрава России
105062, Российская Федерация, Москва, ул. Садовая-Черногрозская, д. 14/19

⁴ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней»
119021, Российская Федерация, Москва, ул. Россолимо, д. 11а, б

⁵ ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина» ДЗМ
123001, Российская Федерация, Москва, Мамоновский пер., д. 7

⁶ ГБУЗ МО «Красногорская городская больница № 1»
143408, Российская Федерация, Московская обл., Красногорск, ул. Карбышева, д. 4

В статье представлены результаты экспериментального исследования нового отечественного препарата «Витреолон» — искусственного стекловидного тела (ИСТ) на основе слабосшитого гидрогеля. Оценена его безопасность и эффективность при лечении отслойки сетчатки у экспериментальных животных в сравнении с силиконовым маслом. Изучались тампонирующие свойства каждого препарата, их влияние на внутренние структуры глаза животного, удобство и безопасность использования в офтальмохирургии. Подготовлена база для проведения детальных доклинических и клинических испытаний.

Для исследования выбраны кролики серая шиншилла, размер глаз которых близок к размеру глаз человека, что дает возможность изучить действие препарата объемом, который примерно равен количеству ИСТ при использовании в клинических условиях. В ходе эксперимента фиксировались показатели офтальмологических осмотров кроликов, проводился ежедневный учет физиологического состояния животных. Срок наблюдений составил от 3 мес. (для кроликов с силиконовой тампонадой) до 6 мес. (для кроликов с тампонадой гидрогелевым ИСТ).

Выявлено, что ИСТ «Витреолон» не уступает силиконовому маслу по качеству тампонирующих свойств, но при этом обладает рядом существенных преимуществ: не эмульгирует, не мигрирует в переднюю камеру глаза, не влияет на обмен внутриглазной жидкости, не вызывает повышения внутриглазного давления (ВГД), длительное время сохраняет форму и прозрачность. Характеристики нового гидрогелевого ИСТ максимально приближены к свойствам нативного стекловидного тела. Применение нового ИСТ «Витреолон» в офтальмохирургии повысит эффективность лечения отслойки сетчатки и сократит сроки послеоперационной реабилитации.

Ключевые слова: гидрогелевый протез стекловидного тела, искусственное стекловидное тело, Витреолон, тампонада, отслойка сетчатки, эффективность лечения

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Алексеев И.Б., Коригодский А.Р., Иомдина Е.Н., Федоров А.А., Белкин В.Е., Самойленко А.И., Барышева Ю.К. Экспериментальное исследование свойств нового отечественного протеза стекловидного тела «Витреолон» в сравнении с силиконовым маслом при смоделированной отслойке сетчатки у кроликов. *Биомедицина*. 2019;15(3):78–89. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-78-89>

Поступила 15.04.2019

Принята после доработки 10.06.2019

Опубликована 10.09.2019

AN EXPERIMENTAL STUDY OF A NOVEL DOMESTIC VITREOUS SUBSTITUTE “VITREOLON” IN COMPARISON WITH SILICONE OIL IN SIMULATED RETINAL DETACHMENT IN RABBITS

Igor B. Alekseyev¹, Alexander R. Korigodskiy², Elena N. Iomdina³, Anatoly A. Fedorov⁴, Vitaly E. Belkin^{5,*}, Alexander I. Samoylenko⁵, Yulia K. Barysheva⁶

¹ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education
of the Ministry of Health of the Russian Federation
125993, Russian Federation, Moscow, Barrikadnaya str., 2/1, building 1

² LLC “HighBiTek”
129110, Russian Federation, Moscow, Mira avenue, 44, building 1

³ Helmholtz Moscow Research Institute of Eye Diseases of the Ministry of Health of the Russian Federation
105062, Russian Federation, Moscow, Sadovaya-Chernogryazskaya str., 14/19

⁴ Scientific Research Institute of Eye Diseases
119021, Russian Federation, Moscow, Rossolimo str., 11A, B

⁵ S.P. Botkin Moscow City Clinical Hospital of the Moscow Department of Health
123001, Russian Federation, Moscow, Mamonovskiy lane, 7

⁶ Krasnogorsk City Hospital No. 1
143408, Russian Federation, Moscow region, Krasnogorsk, Karbysheva str., 4

This article presents the results of an experimental study of a new domestic preparation “Vitreolon”, an artificial vitreous body based on a weakly cross-linked hydrogel. The safety and efficacy of this product for the treatment of retinal detachment in experimental animals was evaluated in comparison with silicone oil. The tamponade properties of each drug, their effect on the internal structure of the animal’s eye, convenience and safety of use in ophthalmic surgery were investigated. A base for conducting detailed preclinical and clinical trials was prepared.

Rabbits of the gray chinchilla breed were chosen for the study, largely because the size of their eye is close to that of the human eye. This fact allowed us to study the effect of “Vitreolon” in an amount approximately equal to that used in clinical conditions. During the experiment, the indicators of ophthalmological examinations of experimental animals were recorded. The physiological state of the animals was controlled daily. The observation period ranged from 3 months (for rabbits with a silicone tamponade) to 6 months (for rabbits with a tamponade using the new hydrogel artificial vitreous body).

It is found that “Vitreolon” is not inferior to silicone oil in terms of tamponade properties. Moreover, it boasts a number of significant advantages, such as a lack of emulsification, absence of migration to the anterior chamber of the eye, no effect on the exchange of intraocular fluid, no effect on the intraocular pressure (IOP), long-term retention of the shape and transparency. The characteristics of the new hydrogel artificial vitreous body are close to those of the native vitreous body. The application of “Vitreolon” in ophthalmic surgery will increase the efficacy of retinal detachment treatment by reducing the recovery time.

Keywords: hydrogel vitreous substitute, artificial vitreous body, Vitreolon, tamponade, retinal detachment, retinal detachment treatment efficacy

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Alekseyev I.B., Korigodskiy A.R., Iomdina E.N., Fedorov A.A., Belkin V.E., Samoilenko A.I., Barysheva Yu.K. An Experimental Study of a Novel Domestic Vitreous Substitute “Vitreolon” in Comparison with Silicone Oil in Simulated Retinal Detachment in Rabbits. *Journal Biomed.* 2019;15(3):78–89. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-78-89>

Submitted 15.04.2019

Revised 10.06.2019

Published 10.09.2019

Введение

Стекловидное тело участвует во многих важных внутриглазных процессах и является сложной многофункциональной структурой глаза. Патологические изменения в стекловидном теле часто становятся причиной серьезных осложнений — например, могут спровоцировать отслойку сетчатки, вызвать частичную или полную утрату зрительных функций [5, 18]. Поэтому после проведенной витрэктомии для сохранения внутриглазных процессов необходимо использовать препарат, наиболее приближенный по своим основным характеристикам к нативному стекловидному телу и обладающий отличными тампонирующими свойствами для фиксации сетчатки.

По данным ряда авторов, в настоящее время отслойка сетчатки, вызванная различными причинами, наблюдается в 5–20 случаях на 100 тыс. населения планеты, имеет стойкую тенденцию к росту, при этом 84% от всех выявленных случаев — это люди трудоспособного возраста [2, 16, 19]. Несмотря на высокие результаты хирургического лечения отслойки сетчатки, в послеоперационный период по-прежнему часто сохраняется риск возникновения рецидивов, которые возникают из-за плохой адаптации применяемых тампонирующих веществ и недостаточной фиксации сетчатки в зоне разрыва [6, 11, 17, 23]. В первую очередь это касается прогрессирования пролиферативной витреоретинопатии (ПВР), которая приводит

к повторным хирургическим вмешательствам [1, 9, 11, 18, 23].

В современной офтальмохирургии для обеспечения устойчивой фиксации сетчатки в зоне разрыва наиболее широко применяются воздушно-газовые смеси и силиконовое масло, которые как обладают хорошими тампонирующими свойствами [8], так и имеют различные недостатки и ограничения по наличию осложнений отслойки и ее локализации [11, 17, 22]. Отметим, что свойства этих тампонирующих веществ далеки от характеристик нативного стекловидного тела. Так, срок тампонады силиконовым маслом ограничен, поскольку со временем оно вызывает различные интраокулярные осложнения [3]. Поэтому в условиях постоянно возрастающего объема интравитреальных вмешательств в плановых или экстренных случаях современная офтальмохирургия испытывает недостаток в качественных имплантатах, идеально заменяющих стекловидное тело.

В последнее время появились научные исследования свойств различных гидрогелей для интравитреальных вмешательств [10, 13–15]. И хотя используемые в этих экспериментах гидрогели не обладали достаточной биосовместимостью и в течение месяца начинали деградировать из-за фагоцитоза и послеоперационных воспалительных процессов, авторы отмечали, что именно эти полимеры по своим свойствам в наибольшей степени обладают большинством параметров, необходимых для имитации физико-

химического поведения нативного стекловидного тела и его биологических функций. Поэтому гидрогели (обычно — шитые полимеры, содержащие в своей структуре значительное количество сорбированной воды) являются наиболее перспективными материалами для искусственного стекловидного тела [13]. Применение в офтальмохирургии ИСТ с такими свойствами позволит значительно повысить эффективность витреоретинальных операций, в т. ч. и лечения отслойки сетчатки.

Новый отечественный искусственный заменитель стекловидного тела «Витреолон» уникален и на данный момент не имеет аналогов в мире. Это сополимерный гель, сочетающий в себе эластичность (относительное удлинение при разрыве составляло 400–500%), упругие свойства (высокий модуль упругости) и обладающий полной биосовместимостью с тканями глаза. По своим основным характеристикам он максимально приближен к идеальным показателям искусственного стекловидного тела.

Сегодня актуально изучение и внедрение новых современных препаратов для эффективной тампонады сетчатки или замены стекловидного тела. Для апробации и внедрения в клиническую практику нового ИСТ «Витреолон» необходимо проведение ряда экспериментальных испытаний: определения его безопасности при использовании в витреоретинальной хирургии, проверки биосовместимости со здоровыми тканями глаза и оценки эффективности препарата для тампонады, в т. ч. на длительный срок.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования в офтальмохирургии нового слабосшитого гидрогеля «Витреолон» в качестве протеза стекловидного тела.

Цель исследования — оценить безопасность и эффективность использования нового отечественного препарата «Витрео-

лон» в качестве ИСТ при смоделированной отслойке сетчатки у экспериментальных животных в сравнении с силиконовым маслом, а также обосновать возможность применения препарата «Витреолон» в офтальмохирургии для проведения дальнейших доклинических и клинических испытаний.

Материалы и методы

Объектом исследования является новое ИСТ «Витреолон», разработанное отечественной компанией ООО «ХАЙБИТЕК», его тампонирующие свойства, биосовместимость и безопасность. «Витреолон» — это слабосшитый гидрогель на основе сополимера N-винилпирролидона и акриловых сомономеров, полученный из мономеров в процессе радикальной полимеризации. По своим основным характеристикам и консистенции он близок к нативному стекловидному телу и представляет собой прозрачный бесцветный или слегка желтоватый гель, имеющий равновесное влагосодержание 93,5–94,2 %, плотность 1,055–1,060 г/см³, коэффициент преломления 1,345–1,350, пропускание света 93–95%.

Гидрогелевый имплантат «Витреолон» биологически инертен, стабилен в водных биологических средах, не вызывает и не поддерживает воспалительные процессы, не проникает под сетчатку, не вызывает изменения в тканях, непосредственно контактирующих с материалом, включая сетчатку глаза и цилиарное тело. Он не мигрирует в переднюю камеру глаза при длительном использовании. Также новое ИСТ на основе гидрогеля обладает хорошими тиксотропными свойствами, т. е. под нагрузкой (при введении) его вязкость значительно уменьшается, а затем восстанавливается в витреальной полости из-за процессов самоструктурирования полимера. Для его введения может быть использована канюля 21G, а в случае необходимости препарат может легко извлекаться из полости глаза и заменяться с помощью канюли того же размера.

Экспериментальное исследование строилось на принципах сравнительного анализа результатов в динамике: фиксировали показатели до выполнения хирургического вмешательства, сразу после операции и до завершения срока наблюдения. Использовался комплексный, аналитический подход, основанный на результатах клинических, морфологических и функциональных исследований. Сравнение свойств нового ИСТ проводилось с наиболее часто используемым на сегодня заменителем стекловидного тела — силиконовым маслом. Эффективность тампонады силиконовым маслом подтверждена длительностью ее использования в офтальмохирургии и, по данным различных авторов, в зависимости от степени тяжести ПВР и давности заболевания составляет от 37 до 95% [6, 9]. Однако при сложных отслойках сетчатки с высокой степенью ПВР примерно в 50% случаев требуется повторная операция из-за возникновения рецидива отслойки [6, 11, 12, 23].

В эксперименте для тампонады смоделированной отслойки сетчатки у лабораторных животных было использовано силиконовое масло Sil-1000-S® (D.O.R.C. Dutch Ophthalmic Research Center (International, Нидерланды)), обладающее следующими параметрами: вязкость 1000–1500 мПа; индекс рефракции 1,40; удельный вес (при 250°C) 0,97 г/см³; коэффициент поверхностного натяжения 21 мН/м на границе с воздухом; коэффициент поверхностного натяжения вне границы разделов 40 мН/м на границе с водой.

В качестве тест-системы использовали половозрелых, физически здоровых кроликов породы советская шиншилла, сходных по весу. Выбор данного вида кроликов основан на том, что они хорошо изучены и наиболее часто используются для экспериментальных исследований [24, 25]. Несмотря на некоторые физиологические особенности строения глаза животного, кролики

данного вида идеально подходят для моделирования отслойки сетчатки. Они обладают относительно крупным размером глаз, близким к размеру глаз человека [20], что дает возможность введения препарата в объеме, приближенном к тому, который планируется использовать в клинической практике. Таким образом, полученные в ходе эксперимента данные о биосовместимости и взаимодействии определенного объема гидрогелевого ИСТ «Витреолон» со здоровыми тканями глаза животного дают основание предполагать, что аналогичные результаты могут быть получены при клинических исследованиях. Также подобный подход помогает экспериментально определить оптимальное количество препарата, чтобы избежать послеоперационных осложнений (гипертензии и развития катаракты), возникающих вследствие погрешностей в интравитреальной хирургической технике. Полученные результаты формируют базу для дальнейших, более детальных доклинических и последующих клинических испытаний нового гидрогелевого ИСТ «Витреолон».

Экспериментальное исследование на кроликах проведено согласно требованиям утвержденного протокола исследования и стандартным операционным процедурам (СОП), в соответствии с Приказом Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики», Национальным стандартом РФ ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (Москва, 2010) и «Guide for the care and use of laboratory animals» (National Academy press. Washington, D.C. 1996).

Основным критерием при отборе кроликов были показатели их физического здоровья, возраста, веса и состояние глаз. В экспериментальные группы были отобраны животные без признаков отклонений от внешнего вида, случайным образом. Животные были получены из питомника

ФГУП ОПХ «Манихино» и 14 дней содержались в виварии для адаптации и контроля здоровья. Во время этого периода контролировались любые признаки отклонения в состоянии здоровья. Животные с обнаруженными в ходе осмотра отклонениями в экспериментальную группу не включались. Всего для эксперимента было отобрано 12 кроликов, которые были разделены на две равные группы: в первой группе тампонирующим веществом являлся ИСТ «Витреолон», во второй — силиконовое масло. Исследовались глаза животных, имеющие физиологически нормальное строение.

В ходе эксперимента кролики содержались по одному в клетках, укомплектованных поильниками и кормушками. Каждому животному был присвоен индивидуальный номер. Все процедуры по рутинному уходу за животными выполнялись в соответствии с СОП лаборатории, с соблюдением стерильности по общепринятой методике [7] и были утверждены локальным этическим комитетом ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Был проведен полный офтальмологический осмотр каждого кролика и определен объем стекловидного тела по методу, разработанному П. И. Лебеховым, который в 1974 г. описал строгую зависимость объема стекловидного тела от вертикального диаметра роговицы: чем больше диаметр роговицы, тем больше объем стекловидного тела [4].

Перед проведением интравитреального вмешательства кролика погружали в состояние медикаментозного сна и фиксировали в стерильной хирургической пеленке на операционном столе.

Наркоз: кролику в/м проводилась премедикация р-ром дифенгидрамина (10 мг, 0,2 мл) и преднизолоном (5 мг, 0,3 мл). Через 15 мин в/м вводился р-р тилетамина гидрохлорида (250 мг) и золазепам гидрохлорида (250 мг / 0,5 мл).

Далее в конъюнктивальную полость проводилась инстиляция антибиотиком (р-р тобрамицина, 3 мг) и трехкратная инстиляция анестетика (проксиметакаина гидрохлорид, 5 мг). Затем в конъюнктивальный мешок вводился обратной стороной общехирургический пинцет для выведения глазного яблока из-под век. В верхненаружном отделе в 2 мм от лимба через конъюнктиву прошивалась склера и накладывался предварительный узловый шов 8-0, концы которого не завязывались. С помощью шприца и надетой на него иглы 21G косо входили в полость глаза по направлению к зрительному нерву на глубину 2 мм (рис. 1). Через рану осторожно отсасывали примерно 3/4 объема стекловидного тела в соответствии с ранее проведенными измерениями.

После удаления части нативного стекловидного тела моделировалась отслойка сетчатки. По меридиану 6 ч в 5 мм от лимба отсепаарывалась конъюнктура и формировался склеральный лоскут треугольной формы. С помощью иглы 27G в субретинальное пространство вводился физ. р-р (0,9% NaCl) под визуальным контролем. Склеральный лоскут ушивался. Лишняя внутриглазная жидкость выводилась через заранее сформированный парацентез роговицы. Далее под контролем микроскопа и контактной линзы с помощью иглы 21G формировался разрыв уже отслоенной сетчатки. Затем через неизвлеченную иглу другим шприцом с набранным заменителем медленно вводили гидрогелевый имплантат «Витреолон» до получения легкой гипертензии глазного яблока. Одновременно с извлечением иглы из полости глаза ассистент затягивал склеральный шов. В глаз инстиллировали антибиотик (р-р тобрамицина, 3 мг). Введение силиконового масла осуществлялось по такой же схеме, с той разницей, что оно вводилось с помощью специальной короткой канюли.

Моделирование отслойки сетчатки и введение тампонирующих средств каждому

кролику проводилось в одну хирургическую сессию.

В послеоперационный период оценивали результаты офтальмологических обследований глаз кроликов и показатели их внутриглазного давления (ВГД) в динамике. Первое обследование проводилось на следующий день после операции, затем — через день до завершения срока наблюдения. При возникновении гипертензии глазное давление корректировалось медикаментозно при помощи гипотензивных капель. Параметры общего физического здоровья кролика, его активность, аппетит и пр. фиксировались ежедневно. Все измерения, проведенные в ходе эксперимента, осуществлялись современными высокотехнологичными приборами.

Наблюдение осуществлялось на протяжении от 3-х мес. (для кроликов с тампонадой силиконовым маслом) до 6-ти мес. (для кроликов с тампонадой новым гидрогелевым ИСТ). Возможности для проведения экспериментального исследования были предоставлены ООО «ХайБитек».

Результаты исследований

На протяжении всего срока наблюдения результаты биомикроскопии переднего отрезка глаза у всех кроликов из первой группы с тампонадой новым ИСТ на основе гидрогеля полностью соответствовали норме. Глаза спокойны, роговица прозрачная, радужка структурна, зрачок правильной формы, реакция на свет сохранена, хрусталик прозрачный, рефлекс глазного дна розовый. Результаты офтальмоскопии глаз в первой группе также показали соответствие норме: диск зрительного нерва (ДЗН) бледно-розовый, границы четки, сосуды нормального калибра, полнокровны, макулярная область без патологии. Показатели ВГД кроликов при тампонаде гидрогелевым ИСТ соответствовали норме, а финальное обследование показало снижение ВГД на 1–2 мм рт. ст. в половине случаев (6 глаз из 12-ти этой группы кроликов). В 4-х случаях показатели ВГД остались неизменными, а в 2-х случаях — всего лишь незначительно возросли (на 2 мм рт. ст.).

У половины кроликов с тампонадой силиконовым маслом при биомикроскопии



*Рис. 1. Введение иглы 21G для аспирации стекловидного тела.
Fig. 1. Introduction of a 21G needle for vitreous suction.*

Таблица. Средние показатели биомикроскопии переднего отрезка глаза, офтальмоскопии, ВГД и итоговое осложнение

Table. Average biomicroscopy indicators of the anterior segment of the eye, ophthalmoscopy, IOP and the resulting complication

№ животного	Препарат	Биомикроскопия переднего отрезка глаза		Офтальмоскопия		ВГД, средние значения		Осложнение, зафиксированное в итоге	
		OD	OS	OD	OS	OD	OS	OD	OS
79	ИСТ «Витреолон»	Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	--	--
80		Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	--	--
81		Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	--	--
82		Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	--	--
83		Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	--	--
84		Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	--	--
50	Силикон 1000	Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	--	--
51		Отек	Отек	За флером	За флером	Гип.	Гип.	Вт./гип. Эмульг.	Вт./гип. Эмульг.
52		Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	16	--	--
53		Отек	Отек	За флером	За флером	Гип.	Гип.	Вт./гип. Эмульг.	Вт./гип. Эмульг.
54		Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	Норма	--	--
55		Отек	Отек	За флером	За флером	Гип.	Гип.	Вт./гип. Эмульг.	Вт./гип. Эмульг.

Примечание: OD (лат. oculus dexter) — правый глаз; OS (oculus sinister) — левый глаз; Гип. — гипертензия (ВГД > 25 мм рт. ст.); Вт./гип. — вторичная гипертензия; Эмульг. — эмульгирование.

Note: OD (oculus dexter) — right eye; OS (oculus sinister) — left eye; Гип. — hypertension (IOP > 25 mm Hg); Вт./гип. — secondary hypertension; Эмульг. — emulsification.

были обнаружены осложнения в виде отеков на обоих глазах (3 кролика, 6 глаз), которые не позволяли исследовать глазное дно при офтальмоскопии, т. к. силиконовое масло эмульгировало и вызвало гипертензию. Показатели ВГД в этой группе демонстрировали устойчивый рост, а в половине случаев достигали значений гипертензии.

Средние показатели наблюдений по всем кроликам представлены в таблице.

В конце эксперимента у кроликов из обеих групп сохранялась локальная отслойка сетчатки, обусловленная техникой выполнения хирургической операции, при которой невозможна полная адаптация сетчатки. При этом локальная отслойка сетчатки не распространялась как при тампонаде новым ИСТ на основе гидрогеля, так и при использовании силиконового масла. Это говорит о хороших тампонирующих свойствах используемых препаратов. Однако у половины кроликов

с введенным силиконовым маслом наблюдалась вторичная гипертензия и эмульгирование силикона (50% случаев). В сравнении с этим, у всех кроликов с новым гидрогелевым ИСТ «Витреолон» отсутствовали какие-либо осложнения на протяжении всего срока наблюдений.

Проведенное в ходе эксперимента морфологическое исследование энуклеированных глазных яблок кроликов в разрезе показало, что новое ИСТ не вызывает никаких изменений в структурах глаза (рис. 2). В месте введения препарата подлежащая склера локально истончена, а сосудистая оболочка, наоборот, утолщена. По периферии пигментированного участка сетчатая оболочка образует циркулярный полупрозрачный валик с отдельными вкраплениями темно-бурого пигмента. Остальная сетчатка прилежит к увеальной оболочке, сохраняя свою прозрачность. Все внутренние структуры

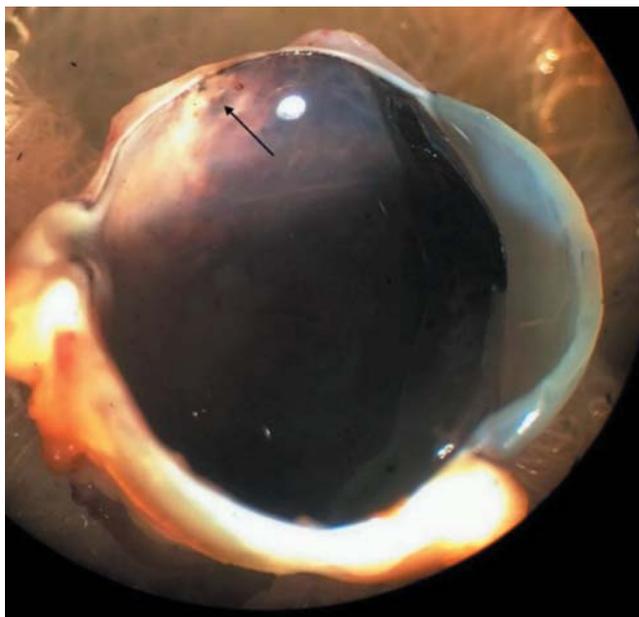


Рис. 2. Срез глазного яблока в области транссклеральной инъекции (на рисунке обозначена стрелкой).
Fig. 2. An eyeball slice in the transscleral injection area (indicated by an arrow).

глаза сохранены, в стекловидной, задней и передней камерах отсутствуют какие-либо преципитаты, геморрагии, шварты, синехии. Признаков воспаления нет.

Это подтверждает данные офтальмологических осмотров и может служить доказательством биосовместимости нового ИСТ «Витреолон» с тканями глаза.

Обсуждение результатов

Таким образом, экспериментально были подтверждены основные характеристики и свойства нового ИСТ на основе гидрогеля, заявленные производителем (прозрачность, вязкость и стерильность), и его максимальное соответствие критериям искусственного заменителя стекловидного тела, что значительно снижает риски послеоперационных осложнений и позволяет повысить эффективность витреальных операций.

Биосовместимость нового препарата «Витреолон» с тканями глаза и его соответствие параметрам нативного стекловидного тела является неоспоримым

преимуществом перед всеми используемыми сегодня ИСТ. Несмотря на широкое применение, срок тампонады силиконового масла ограничен, поскольку рано или поздно масло вызывает различные интраокулярные осложнения (катаракта, эмульгирование масла, глаукома и др.), которые приводят к снижению зрительных функций [3]. До сих пор среди офтальмохирургов существуют различные мнения о сроках и показаниях для ревизии витреальной полости во время силиконовой тампонады при возникновении рецидива отслойки сетчатки. По мнению большинства, срок нахождения силиконового масла 1000 sSt в витреальной полости не должен превышать одного месяца, в противном случае значительно возрастает риск развития осложнений [12, 21].

Новое ИСТ на основе гидрогеля по своим тампонирующим свойствам ничем не уступает силиконовому маслу: держит объем, не расширяется, сохраняет поверхностное натяжение и удерживает сетчатку на месте.

Однако по сравнению с силиконом «Витреолон» более стабилен и сохраняет все свои характеристики на протяжении длительного времени. В отличие от силиконов, новое ИСТ проницаемо для внутриглазной жидкости, вследствие чего опосредованно не подавляет деятельность цилиарного тела. При длительном использовании гидрогелевое ИСТ не эмульгирует и не мигрирует в переднюю камеру глаза и может быть использовано для длительной тампонады витреальной полости глазного яблока после проведенной витрэктомии.

Выводы

Результаты экспериментального исследования доказывают, что новое гидрогелевое ИСТ «Витреолон» не оказывает токсического, аллергического или др. негативного действия на внутренние структуры глаза и физическое состояние лабораторных животных. Результаты демонстрируют безопасность использования нового гидрогелевого заменителя стекловидного тела для лечения отслойки сетчатки. Зрительные функции сохранены, показатели ВГД — соответствовали норме (94% глаз от общего числа). Показатели физического здоровья полностью соответствовали норме.

Подтверждена безопасность нового ИСТ на основе гидрогеля для тканей глаза и всего организма животных. Новое ИСТ «Витреолон» не оказывает никакого системного или местного токсического действия, не вызывает повышения ВГД на всех сроках наблюдения и длительное время полностью сохраняет свою прозрачность. Осложнения в послеоперационном периоде не выходят за рамки существующих показателей при использовании др. современных ИСТ.

В ходе эксперимента была доказана лечебная эффективность нового ИСТ на основе гидрогеля. В 100% случаев при тампонаде «Витреолоном» отсутствовали осложнения на протяжении всего срока наблюдений. В то время как в 50% случаев при тампонаде силиконовым маслом наблюдалась различные осложнения.

Установлено, что новый гидрогелевый ИСТ «Витреолон» может быть использован при лечении отслойки сетчатки, при полной или частичной замене стекловидного тела и для длительной тампонады витреальной полости. В качестве возможных противопоказаний его использования можно назвать все виды ограничений при микроинвазивной витрэктомии и индивидуальную непереносимость к одному из компонентов препарата. Для этого необходимо проведение дальнейших исследований.

Результаты данного экспериментального исследования открывают перспективы применения гидрогелевого ИСТ «Витреолон» в клинической практике. Это позволит уйти от тех проблем, которые присущи применяемым сегодня заменителям стекловидного тела, и будет способствовать повышению эффективности лечения отслойки сетчатки. Удобство его применения и тиксотропные свойства минимизируют операционную травму глаза и дают возможность проводить хирургическое лечение отслойки сетчатки с любой локализацией разрывов, а также сокращают сроки послеоперационной реабилитации.

Полученные данные могут быть использованы как базисные для проведения расширенного доклинического и клинического исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Азнабаев М.Т., Ахгьямов К.Н., Бабушкин А.Э. При-чины низких зрительных функций и методы ре-абилитации у больных после успешно оперирован-ной отслойки сетчатки. *Вестник офтальмологии*. 2005;5:50–52. [Aznabayev M.T., Akhgyamov K.N., Babushkin A.E. Prichiny nizkikh zritel'nykh funktsiy i metody reabilitatsii u bol'nykh posle uspešno operirovannoy otsloyki setchatki [Causes of low visual functions and methods of rehabilitation in patients af-ter successfully operated retinal detachment]. *Vestnik ofial' mologii [The Russian Annals of Ophthalmology]*. 2005;5:50–52. (In Russian)].
2. Белькевич Ю.Л., Самохвалова Н.М., Юрковец А.Г., Киненес А.А. Лечение локальной тракционно-регма-тогенной отслойки сетчатки методом двухпортовой 25G-фокальной витрэктомии при повторном хирур-гическом вмешательстве. *Современные технологии в офтальмологии*. 2014;1:19–20. [Bel'kevich Yu.L., Samokhvalova N.M., Yurkovets A.G., Kinenes A.A. Lecheniye lokal'noy traksionno-regmatogennoy otsloyki setchatki metodom dvukhportovoy 25G-fokal'noy vitrektomii pri povtornom khirurgicheskom vmeshatel'stve [Treatment of local traction-regmatogenous retinal detachment by the method of dual-port 25G-focal vitrectomy with repeated surgical intervention]. *Sovremennyye tekhnologii v ofial' mologii [Modern technologies in ophthalmology]*. 2014;1:19–20. (In Russian)].
3. Казайкин В.Н. Тампонада витреальной полости силиконовым маслом в комплексном лечении отслойки сетчатки: автореф. дис. ... док. мед. наук. М., 2009. 40 с. [Kazaykin V.N. Tamponada vitreal'noy polosti silikonovym maslom v kompleksnom lechenii otsloyki setchatki: avtoref. diss. ... dok. med. nauk [Vitreal cavity tamponade with silicone oil in the complex treatment of retinal detachment: abstract of dissertation ... Dr. Sci. (Med.)]. Moscow, 2009. 40 p. (In Russian)].
4. Лебехов П.И. Прободные ранения глаз. Л.: Медици-на, 1974. 145 с. [Lebekhov P.I. Probodnyye raneniya glaz [Perforated wounds of eyes]. Leningrad: Meditsi-na, 1974. 145 p. (In Russian)].
5. Либман Е.С. Слепота и инвалидность вследствие патологии органа зрения в России. *Вестник офтальмологии*. 2006;122(1):35–37. [Libman Ye.S. Slepota i invalidnost' vsledstviye patologii organa zreniya v Rossii [Blindness and disability due to pathology of the organ of vision in Russia]. *Vestnik ofial' mologii [The Russian Annals of Ophthalmology]*. 2006;122(1):35–37. (In Russian)].
6. Машченко Н.В., Худяков А.Ю., Сорокин Е.Л. Срав-нительный анализ отдаленных результатов хи-рургического лечения первичной регматогенной отслойки сетчатки с использованием экстра- и интраокулярных подходов. *Офтальмохирургия*. 2017;2:17–21. [Mashchenko N.V., Khudyakov A.Yu., Sorokin E.L. Sravnitel'nyy analiz otdalennykh rezul'tatov khirurgicheskogo lecheniya pervichnoy regmatogennoy otsloyki setchatki s ispol'zovaniyem ekstra- i intraokulyarnykh podkhodov [Comparative analysis of long-term results of surgical treatment of primary rhegmatogenous retinal detachment using extra- and intraocular approaches]. *Oftal' mokhirurgiya [Ophthalmosurgery]*. 2017;2:17–21. (In Russian)].
7. Назарян М.Г. Экспериментально-клиническое исследование травматичности удаления корти-кальных слоев стекловидного тела механическим и гидроделаминационным методами: дис. ... канд. мед. наук. М., 2009. 119 с. [Nazaryan M.G. Ekspe-rimental'no-klinicheskoye issledovaniye travmatichnosti udaleniya kortikal'nykh sloyev steklovidnogo tela mekhanicheskim i gidrodela-minatsionnym metodami: diss. ... kand. med. nauk [Experimental'no-klinicheskoye issledovaniye travmatichnosti udaleniya kortikal'nykh sloyev steklovidnogo tela mekhanicheskim i gidrodela-minatsionnym metodami: diss. ... kand. med. nauk [Experimental and clinical study of the morbidity of the removal of the cortical layers of the vitreous body by mechanical and hy-drodelaminational methods: dissertation ... Cand. Sci. (Med.)]. Moscow, 2009. 119 p. (In Russian)].
8. Рапопорт А.А., Казайкин В.Н. Выбор тампона-ды витреальной полости в комплексном лечении отслойки сетчатки. *Современные технологии в офтальмологии. Современные технологии ле-чения витреоретинальной патологии: Науч.-практ. журнал*. 2014;1:85–87. [Rapoport A.A., Kazay-kin V.N. Vybor tamponady vitreal'noy polosti v kompleksnom lechenii otsloyki setchatki [The choice of tamponade vitreal cavity in the complex treatment of retinal detachment]. *Sovremennyye tekhnologii v ofial' mologii. Sovremennyye tekhnologii lecheniya vitreoretinal'noy patologii: Nauch.-prakt. zhurnal [Modern technology in ophthalmology. Modern tech-nologies of treatment of vitreoretinal pathology: Sci-entific and Practical J.]*. 2014;1:85–87. (In Russian)].
9. Худяков А.Ю., Жигулин А.В., Лебедев Я.Б. и др. Анализ причин рецидивов отслойки сетчатки. В кн.: *Современные технологии лечения витреоретинальной патологии: Сб. тез. М., 2009. С. 181–183. [Khudyakov A.Yu., Zhigulin A.V., Lebedev Ya.B., et al. Analiz prichin retsidivov otsloyki setchatki [Analysis of the causes of retinal retinal detachment]. In: *Sovremennyye tekhnologii lecheniya vitreoretinal'noy patologii: Sb. tez. [Modern technologies for the treatment of vitreoretinal pathology: Collection of theses]*. Moscow, 2009. Pp. 181–183. (In Russian)].*
10. Azad S.V., Mahajan D., Sain S., Jain A., Brijesh T., Azad R. Vitreous Substitutes. *Delhi J. Ophthalmol*, 2012;23(1):9–13.
11. Binder S. Vitreous surgery with silicone oil: what next? *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* 1998;212(3):5.
12. Casswell A.G., Gregor Z.J. Silicone oil removal. I. The effect on the complications of silicone oil. *Br. J. Ophthalmol.* 1987;71(12):893–897.
13. Chirila T.V., Hong Y., Dalton P.D., et al. The use of hydrophilic polymers as artificial vitreous. *Progress in Polymer Science.* 1998;23(3):475–508.
14. Donati S., Caprani S.M., Airaghi G., et al. Vitreous Substitutes: The Present and the Future. *BioMed Re-search International.* 2014:12.
15. Foster W.J. Vitreous Substitutes. *Expert Rev. Ophthal-mol.* 2008;3(2):211–218.

16. Fraser S., Steel D. Retinal detachment. *BMJ Clinical Evidence*. 2010:0710.
17. Fujii G.Y., De Juan E. Jr., Humayun M.S., et al. A new 25-gauge instrument system for transconjunctival sutureless vitrectomy surgery. *Ophthalmology*. 2002;109:1807–1812.
18. Goezinne F., La Heij E.C., Berendchot T.T.J.M., et al. Risk factors for redetachment and worse visual outcome after silicone oil removal in eyes with complicated retinal detachment. *Eur. J. Ophthalmol*. 2007;17(4):627–637.
19. Haimann M.H., Burton T.C., Brown C.K. Epidemiology of retinal detachment. *Arch. Ophthalmol*. 1982;100:289–292.
20. Hayashi S., Osawa T., Tohyama K. Comparative observations on corneas, with special reference to Bowman's layer and Descemet's membrane in mammals and amphibians. *J. Morphology*. 2002;254(3):247–258.
21. Kampik A., Hoing C., Heidenkummer H.P. Problems and timing in the removal of silicone oil. *Retina*. 1992;12(3), Suppl.:11–16.
22. Kapran Z., Acar N. Active removal of silicone oil with 25-gauge sutureless system. *Retina*. 2007;27(8):1133–1135.
23. Lucke K., Laqua H. *Silicone oil in the treatment of complicated retinal detachments*. Berlin: Springer-Verlag, 1990. P. 161.
24. York M., Steling W. A critical review of the assessment of eye irritation potential using the Draize rabbit eye test. *J. Appl. Toxicol*. 1998;18:233–240.
25. Zernii E.Y., Baksheeva V.E., Iomdina E.N., et al. Rabbit models of ocular diseases: new relevance for classical approaches. *CNS and Neurological Disorders — Drug Targets*. 2016;15(1):1–25.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Алексеев Игорь Борисович, д.м.н., проф., ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России;
e-mail: ialekseev63@mail.ru

Igor B. Alekseev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: ialekseev63@mail.ru

Коригодский Александр Робертович, к.х.н., ООО «ХАЙБИТЕК»;
e-mail: hibitech@gmail.com

Alexander R. Korigodsky, Cand. Sci. (Chem.), LLC “HighBiTek”;
e-mail: hibitech@gmail.com

Иомдина Елена Наумовна, д.б.н., проф., ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России;
e-mail: iomdina@mail.ru

Elena N. Iomdina, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Helmholtz Moscow Research Institute of Eye Diseases of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: iomdina@mail.ru

Федоров Анатолий Александрович, к.м.н., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней»;
e-mail: qdn@mail.ru

Anatoly A. Fedorov, Cand. Sci. (Med.), Scientific Research Institute of Eye Diseases;
e-mail: qdn@mail.ru

Белкин Виталий Евгеньевич*, ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина» ДЗМ;
e-mail: belkin.ve@gmail.com

Vitaly E. Belkin*, S.P. Botkin Moscow City Clinical Hospital of the Moscow Department of Health;
e-mail: belkin.ve@gmail.com

Самойленко Александр Игоревич, к.м.н., ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина» ДЗМ;
e-mail: ophthalm@yandex.ru

Alexander I. Samoylenko, Cand. Sci. (Med.), S.P. Botkin Moscow City Clinical Hospital of the Moscow Department of Health;
e-mail: ophthalm@yandex.ru

Барышева Юлия Константиновна, ГБУЗ МО «Красногорская городская больница № 1»

Yulia K. Barysheva, Krasnogorsk City Hospital No. 1

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-90-97>



ПОИСК НОВЫХ МОЛЕКУЛ ОЛИГОПЕПТИДОВ ДЛЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ НПВС-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЯЗВЫ ЖЕЛУДКА

А. Ю. Жариков, С. Э. Лоренц*, И. П. Бобров, О. Н. Мазко, О. Г. Макарова

*ФГБОУ «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России
656038, Российская Федерация, Алтайский край, Барнаул, просп. Ленина, д. 40*

В статье представлены результаты скринингового исследования гастропротекторной активности ряда короткоцепочечных пептидов на фоне экспериментальной гастропатии у крыс. В качестве модели использована «индометациновая гастропатия», в качестве препарата сравнения — базисный препарат омепразол. По результатам проведенного исследования гастропротекторная активность обнаружена при недельном профилактическом интрагастральном введении у двух пептидов: тетрапептида LA-4 и гексапептида LF-6. Эффект проявлялся в достоверном снижении среднего числа эрозий на поверхности слизистой желудка, уменьшением их глубины, значительным снижением числа полосовидных эрозий и индекса Паулса. При этом у пептида LF-6 и у препарата сравнения — омепразола наблюдались схожие эффекты.

Ключевые слова: НПВС-индуцированная гастропатия, гастропротекторное действие, олигопептиды, индометацин

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Жариков А.Ю., Лоренц С.Э., Бобров И.П., Мазко О.Н., Макарова О.Г. Поиск новых молекул олигопептидов для фармакологической коррекции НПВС-индуцированной язвы желудка. *Биомедицина*. 2019;15(3):90–97. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-90-97>

Поступила 06.02.2019

Принята после доработки 18.07.2019

Опубликована 10.09.2019

SEARCH FOR NEW OLIGOPEPTIDE MOLECULES FOR PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF NSAIDS-INDUCED GASTRIC ULCER

**Aleksandr Yu. Zharikov, Samira E. Lorents*, Igor P. Bobrov, Olesya N. Mazko,
Olesya G. Makarova**

*Altai State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
656038, Russian Federation, Altai Krai, Barnaul, Lenina avenue, 40*

This article presents the results of a study aimed at determining the gastroprotective activity of a number of short-chain peptides against the background of experimental gastropathy in rats. Indomethacin ulcer was used as a model of ulceration. Omeprazole, a drug of basic therapy, was used as a comparison drug. According to the results of the study, two peptides — tetrapeptide LA-4 and hexapeptide LF-6 — demonstrated the gastroprotective activity. The effect was manifested in a significant decrease in the average number of erosions on the surface of the gastric mucosa, their depth, the number of stripe-shaped erosions and Paul's Index. At the same time, the LF-6 peptide had an effect comparable to that of omeprazole, which makes it promising and interesting for further study.

Keywords: NSAID induced gastropathy, gastroprotective effect, oligopeptides, indomethacin

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Zharikov A.Yu., Lorents S.E., Bobrov I.P., Mazko O.N., Makarova O.G. Search for New Oligopeptide Molecules for Pharmacological Correction of NSAIDs-Induced Gastric Ulcer. *Journal Biomed.* 2019;15(3):90–97. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-90-97>

Submitted 06.02.2019

Revised 18.07.2019

Published 10.09.2019

Введение

Проблемой широкого применения в медицине нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) является выраженный побочный эффект со стороны слизистой желудочно-кишечного тракта. В частности, применение НПВС является основной причиной повсеместного распространения гастропатий среди населения развитых стран [1, 5]. В этой связи поиск новых гастропротекторных препаратов сохраняет свою высокую актуальность.

Сегодня одним из перспективных направлений поиска оптимального гастропротекторного средства является переход к использованию природных соединений. В частности, изучается роль пептидов природного и синтетического происхождения в регуляции протективной функции слизистой оболочки желудка (СОЖ) [2, 10, 11].

Ранее нами был получен экспериментальный пептидный комплекс из тканей свиных почек, для которого в доклинических условиях была установлена гастропротекторная активность [8]. Затем, после идентификации аминокислотного состава полученного пептидного комплекса, посредством драг-дизайна были смоделированы химические структуры 6-ти индивидуальных олигопептидов с предполагаемой гастропротекторной активностью, которую предстояло проверить в экспериментальных условиях.

Таким образом, **цель** настоящего исследования — провести скрининговое исследование гастропротекторной активности шести синтезированных индивидуальных олигопептидов и установить характер их влияния на течение экспериментальной «индометациновой» гастропатии.

Материалы и методы

Эксперименты были проведены на 78-ми самцах крыс популяции линий Wistar в возрасте 3–4 недель средней массой 200 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Животные были получены из питомника ФИЦ «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения РАН (г. Новосибирск). Эксперименты на крысах проводили в соответствии с Приказом Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» и требованиями Федерального закона «О защите животных от жестокого обращения» от 01.09.1997 г.

Животные были разделены на 8 экспериментальных групп:

1. Контрольная группа (КГ) — моделирование «индометациновой» гастропатии (8 особей).
2. Подопытная группа 1 (ПГ-1) — моделирование «индометациновой» гастропатии + введение пептида LA-4 (10 особей).
3. Подопытная группа 2 (ПГ-2) — моделирование «индометациновой» гастропатии + введение пептида LP-5 (10 особей).
4. Подопытная группа 3 (ПГ-3) — моделирование «индометациновой» гастропатии + введение пептида LF-6 (10 особей).
5. Подопытная группа 4 (ПГ-4) — моделирование «индометациновой» гастропатии + введение пептида LG-7 (10 особей).
6. Подопытная группа 5 (ПГ-5) — моделирование «индометациновой» гастропатии + введение пептида LV-8 (10 особей).

Таблица 1. Характеристики объектов исследования

Table 1. Characteristics of the research objects

Формула	Чистота	Доза (мг/кг)
Leu-Ile-Lys-Ala (LA-4)	98%	14,8
Leu-Ile-Lys-Ala-Pro (LP-5)	98%	18,0
Leu-Ile-Lys-Ala-Pro-Phe (LF-6)	98%	20,8
Leu-Ile-Lys-Ala-Pro-Phe-Gly (LG-7)	98%	23,6
Leu-Ile-Lys-Ala-Pro-Phe-Gly-Val (LV-8)	98%	26,4
Leu-Ile-Lys-Ala-Pro-Phe-Gly-Val-Arg (LR-9)	98%	29,0

7. Подопытная группа 6 (ПГ-6) — моделирование «индометациновой» гастропатии + введение пептида LR-9 (10 особей).

8. Группа сравнения (ГС) — моделирование «индометациновой» гастропатии + введение препарата сравнения омепразол (10 особей).

Пептиды получали методом химического синтеза на предприятии «Shanghai Apeptide Co.», Ltd. (г. Шанхай, Китайская Народная Республика) при посредничестве ЗАО «Эвалар» (г. Бийск, Россия). Основные характеристики изучаемых пептидов представлены в табл. 1.

Дозы пептидов рассчитывали по формуле:

$$d_{\text{«пепт»}} = d_{\text{«п.к.»}} \times \Sigma \omega_{\text{(ам.к.)}}$$

где $d_{\text{«пепт»}}$ — доза пептида;

$d_{\text{«п.к.»}}$ — доза пептидного комплекса из тканей свиных почек, гастропротекторное действие которого было апробировано ранее [8];

$\Sigma \omega_{\text{(ам.к.)}}$ — сумма массовых долей аминокислот (выраженная в десятичных дробях), из которых состоит структура пептида, в составе пептидного комплекса из тканей свиных почек.

Исследуемые пептиды животным вводили в дозах, указанных в табл. 1, в/ж через зонд ежедневно в течение 7-ми дней до моделирования индометацинового повреждения слизистой желудка. Последнее введение приходилось за 1 ч до начала действия повреждающего фак-

тора. Животным группы сравнения в том же режиме вводили препарат сравнения омепразол в дозе 37 мг/кг (что составляет 2% от LD_{50}) [4], животным контрольной группы вводили эквивалентные количества физ. р-ра. За 1 сут до моделирования гастропатии животных подвергали пищевой депривации со свободным доступом к воде. Модель повреждения СОЖ воспроизводили однократным внутрижелудочным введением индометацина в дозе 60 мг/кг в 1 мл физ. р-ра.

Через 4 ч после введения индометацина животным подвергали эвтаназии, желудки извлекали, вскрывали по малой кривизне, промывали р-ром NaCl 0,9%. Полученные препараты фиксировали в 10% р-ре нейтрального формалина. На поверхности СОЖ подсчитывали общее число эрозий, число глубоких полосовидных эрозий, число поверхностных точечных эрозий. Индекс Паулса (ИП) высчитывали для каждого вида повреждений по формуле: $(N \times K) / 100$, где N — среднее число эрозий на 1 животное, K — процент пораженных животных в группе.

Для проведения микроскопического исследования препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Гистохимическое выявление нейтральных мукополисахаридов осуществляли с помощью ШИК-реакции, кислые мукополисахариды выявляли при помощи окраски альциановым синим (рН=2,5). Плотность воспалительного инфильтрата подсчитывали в 1 мм² при помощи окулярной сетки Г.Г. Автандилова.

Морфометрические СОЖ осуществляли при помощи морфометрической программы Image Tool 3.0. Статистический анализ проводили при помощи программы Statistica for Windows 6.0. Рассчитывали среднее значение, стандартную ошибку. Достоверность различий устанавливали при помощи критерия Манна — Уитни.

Результаты исследований

Результаты проведенного исследования количественно представлены в табл. 2.

При макроскопическом исследовании на поверхности СОЖ крыс контрольной группы были отчетливо видны изменения в виде глубоких полосовидных и поверхностных точечных эрозий. Результаты микроскопического исследования СОЖ крыс контрольной группы также показали, что индометацин вызывал появление тяжелых поражений в СОЖ с наличием обширного отека и инфильтрации лейкоцитов в подслизистом слое. При микроскопическом исследовании СОЖ у крыс контрольной группы выглядела атрофичной, покровно-ямочный эпителий находился в состоянии дистрофии. Некротические изменения в эрозивных дефектах достигали мышечного слоя. Во многих эрозиях отмечались массивные отложения солянокислого гематина. В мышечном слое фиксировались явления отека и умеренно выраженного воспаления.

У экспериментальных животных группы ПГ-1 при макроскопическом исследовании рельеф СОЖ был, в основном, ровный, определялись единичные бугристые участки. В сравнении с животными контрольной группы повреждения были менее выражены. Среднее число эрозий оказалось более чем в 2 раза меньше, причем наиболее опасные полосовидные эрозии практически отсутствовали. Кроме того, средняя глубина эрозий также оказалось почти в 5 раз меньше, чем в контрольной группе. Толщина СОЖ была статистически

значимо больше, чем у крыс контрольной группы. В подслизистом слое отмечали явления умеренно выраженного воспаления, при этом плотность воспалительного инфильтрата была в 1,6 раза меньше, чем в контроле.

В группе ПГ-2 при макроскопическом исследовании рельеф СОЖ был бугристый, неровный, складки были утолщены. Отмечали атрофические изменения СОЖ. Повреждения были представлены длинными не глубокими и глубокими полосовидными эрозиями, доходящими до середины толщины слизистой оболочки, и точечными эрозиями. Количество эрозий в среднем достоверно не отличалось от значений контрольной группы, однако в 3 раза меньше оказалась глубина обнаруженных эрозий, на треть снизилась плотность воспалительного инфильтрата.

У крыс группы ПГ-3 (пептид LF-6) макроскопически СОЖ выглядела ровной, атрофических изменений обнаружено не было. Деструктивные изменения при воздействии данного пептида имели слабо выраженный характер, были представлены, в основном, точечными эрозиями. Число повреждений было в 4,2 раза меньше, чем у животных контрольной группы. Данный пептид оказал действие, наиболее близкое к эффекту препарата сравнения омепразола, число эрозий при использовании пептида статистически значимо не отличалось от показателя группы сравнения. Средняя глубина эрозий оказалась достоверно меньше, чем при применении омепразола.

В группах ПГ-4, ПГ-5 и ПГ-6 сколь-нибудь значимого гастропротекторного действия выявлено не было, либо вовсе наблюдалось усугубление протекания экспериментальной патологии. При макроскопическом исследовании рельефа СОЖ была бугристой, неровной, складки были выражены. Отмечали атрофические изменения СОЖ. Повреждения были представлены длинными глубокими полосовидными эро-

Таблица 2. Морфологические характеристики препаратов слизистой оболочки желудка экспериментальных животных
Table 2. Morphological characteristics of the gastric mucosa preparations obtained from experimental animals

Показатель	Контроль	Пептиды							
		LA-4 (ПГ-1)	LP-5 (ПГ-2)	LF-6 (ПГ-3)	LG-7 (ПГ-4)	LV-8 (ПГ-5)	LR-9 (ПГ-6)	Омепразол	
Среднее число повреждений СОЖ	9,6±1,7	4,5±1,5 p _k =0,04 -53%	8,0±2,7	2,25±0,6 p _k =0,001 -77%	13,0±2,0	9,5±2,9	14,5±4,0	1,4±0,4 p _k =0,0003 -85%	
Среднее число полпосовидных эрозий	4,8±0,9	0,25±0,2 p _k =0,0002 -95%	3,75±2,25	0,25±0,2 p _k =0,0002 -95%	6,75±1,65	2,5±1,5	9,0±3,3	0	
Поражение полпосовидными эрозиями (%)	100	25	50	25	100	50	75	0	
Среднее число точечных эрозий	4,6±1,4	4,25±1,3	4,25±1,3	2,0±0,4	6,25±0,85	7,0±2,9	5,5±1,0	1,4±0,4 p _k =0,04 -70%	
Поражение точечными эрозиями (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	
Общий индекс Паулса	9,6	4,5	8	2,25	13	9,5	14,5	1,4	
Индекс Паулса для полпосовидных эрозий	24	0,06	1,9	0,06	6,75	1,25	6,75	0	
Индекс Паулса для точечных эрозий	16,8	4,25	4,25	2	6,25	7	5,5	1,4	
Средняя толщина СОЖ (мкм)	335,6±12,4	553,7±18,8 p _k <0,000001	387,3±16,3 p _k =0,02	476±9,7 p _k <0,000001	338,5±11,8	376,7±11,8 p _k =0,02	328,4±12,6	609,7±13,7	
Средняя глубина эрозий (мкм)	385,75±23,7	78,5±15 p _k <0,000001 -80%	107,9±9,5 p _k <0,000001 -72%	94,8±5,6 p _k <0,000001 -75%	176,1±4,1 p _k <0,000001 -54%	163,3±8,6 p _k <0,000001 -58%	190±8,5 p _k =0,000001 -51%	115,8±5,2 p _k <0,000001 -70%	
Средняя плотность воспалительного инфильтрата в 1 мм ² СОЖ	1333,3±70,5	800±46,2 p _k =0,00001 -40%	880±92,3 p _k =0,001 -34%	720±46,2 p _k =0,000003 -46%	1546,7±141,1	1253,3±70,5	1466,7±70,5	1040±211,7	

Примечание: Данные представлены в виде среднего значения показателя и стандартной ошибки среднего. p_k — показатель статистической значимости относительно контрольной группы.

Note: The data are presented as a mean value and the standard error of the mean. p_k is an indicator of statistical significance in comparison with the control group.

зиями, достигающими до нижней трети СОЖ, и точечными эрозиями. В подслизистом слое были видны явления умеренно выраженного воспаления, сосуды были расширены, полнокровны.

Обсуждение результатов

Результаты проведенного исследования показали, что наиболее выраженный гастропротекторный эффект был выявлен у пептида LF-6. Терапевтическое действие проявлялось достоверно меньшим средним количеством и глубиной эрозий, малым числом глубоких полосовидных эрозий и невысоким ИП. При этом достигался эффект, приближенный к действию препарата сравнения омепразола, который рекомендован для терапии язвенной болезни желудка в качестве средства первой линии [6]. Не установлена гастропротекторная активность при применении пептидов LP-5, LG-7, LV-8 и LR-9. Гастропротекторный эффект при применении пептида LA-4 носил промежуточный характер.

Обсуждая предполагаемый механизм установленного защитного действия пептидов LF-6 и LA-4, необходимо отметить, что в предыдущих исследованиях нами было обнаружено выраженное антиоксидантное действие комплекса, содержащего исследуемые пептиды, проявляющееся в подавлении активности процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов [7]. Учитывая тот факт, что роль оксидативного повреждения в патогенезе поражений слизистой желудка общепризнана [12], данный эффект может частично объяснять механизм га-

стропротекторного действия исследуемых пептидов.

Также при применении пептидов в СОЖ отмечалось значительное уменьшение плотности воспалительного инфильтрата. В одном из предыдущих экспериментов мы отмечали снижение активности основного фермента острой фазы воспаления ЦОГ-2 в СОЖ на фоне применения пептидного комплекса [7]. Эти наблюдения дают основание предположить, что терапевтическое действие пептидов также опосредовано его противовоспалительным эффектом в очаге изъязвления.

Данные литературы указывают на то, что короткоцепочечные пептиды могут также опосредовать свой гастропротекторный эффект через влияние на секрецию NO и тонус сосудов слизистой [2, 11]. Наличие подобного компонента действия предполагается проверить в дальнейших исследованиях.

Суммируя вышеизложенное, пептиды LF-6 и LA-4 представляют интерес для дальнейшего изучения с целью создания на их основе нового лекарственного средства для коррекции НПВС-индуцированной гастропатии.

Выводы

При применении пептидов LA-4 и LF-6 на фоне индометацин-индуцированной экспериментальной гастропатии у крыс наблюдается гастропротекторный эффект.

Наиболее выраженный гастропротекторный эффект наблюдается у пептида LF-6. Этот эффект по ряду показателей сопоставим с действием омепразола, препарата базисной терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Абдулганиева Д.И., Салихов И.Г. Гастроэнтерологические проблемы при ревматических заболеваниях. *Практическая медицина*. 2011;1(48):89–95. [Abdulganieva D.I., Salikhov I.G. Gastroenterologicheskie problemy pri revmaticheskikh zabolovaniyah [Gastrointestinal problems in patients with rheumatic diseases]. *Prakticheskaya medicina [Practical medicine]*. 2011;1(48):89–95. (In Russian)].
2. Булгаков С.А. Гексапептид даларгин в клинической гастроэнтерологии: 30-летний опыт использования препарата. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*.

- 2016;3(26):103–112. [Bulgakov S.A. Geksapeptid dalargin v klinicheskoy gastroenterologii: 30-letnij opyt ispol'zovaniya preparata [Hexapeptide dalargin in clinical gastroenterology: 30 years' of clinical application of the drug]. *Rossijskij zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii* [Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology]. 2016;3(26):103–112. (In Russian)].
3. Жариков А.Ю., Жарикова Г.В., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Кирьякова В.О. К вопросу идентификации биологически активных веществ нового средства для лечения мочекаменной болезни. *Бюллетень медицинской науки*. 2017;8(164):237–240. [Zharikov A.Yu., Zharikova G.V., Mazko O.N., Makarova O.G., Kirjakova V.O. K voprosu identifikatsii biologicheskii aktivnykh veshchestv novogo sredstva dlya lecheniya mochekamennoj bolezni [Identification of the issue of the new biologically active substances for the treatment of urolithiasis]. *Byulleten' medicinskoj nauki* [Bulletin of Medical Science]. 2017;8(164):237–240. (In Russian)].
 4. Ивянская Е.В. *Исследование антиульцерогенного действия деанола ацеглума, мексидола и их комбинации с омепразолом, мизопростомом и ранитидином на фоне аллоксанового диабета: дис. ... канд. мед. наук*. Старая Купавна, 2010. [Ivyanskaya E.V. *Issledovanie antiulserogenogo dejstviya deanola atseglumata, meksidola i ih kombinatsii s omeprazolom, mizoprostolom i ranitidinom na fone alloxanovogo diabeta: diss. ... kand. med. nauk* [Study of the antiulcerogenic action of deanol aceglumate, Mexidol and their combination with omeprazole, misoprostol and ranitidine against the background of alloxan diabetes: dissertation ... Cand. Sci. (Med.)]. Staraya Kupavna, 2010. (In Russian)].
 5. Карасева Г.А. НПВП-индуцированная гастропатия: от понимания механизмов развития к разработке стратегии профилактики и лечения. *Медицинские новости*. 2012;8:21–26. [Karasyova G.A. NPVP-indutsirovannaya gastropatiya: ot ponimaniya mekhanizmov razvitiya k razrabotke strategii profilaktiki i lecheniya [NSAID-gastropathy: from understanding to prevention and treatment strategy development]. *Medicinskie novosti* [Medical news]. 2012;8:21–26. (In Russian)].
 6. *Клинические рекомендации Министерства здравоохранения РФ «Язвенная болезнь у взрослых»*. 2016. [Klinicheskie rekomendacii Ministerstva zdravoohraneniya RF "Yazvennaya bolezny u vzroslykh" [Clinical guidelines of the Ministry of health of the Russian Federation "peptic Ulcer in adults"]. 2016. (In Russian)].
 7. Лоренц С.Э., Жариков А.Ю., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Кореновский Ю.В., Поповцева А.В. и др. Влияние пептидного комплекса из тканей свинных почек на показатели свободнорадикального окисления и экспрессию ЦОГ-1,2 при экспериментальной гастропатии. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2018;6(154):81–85. [Lorents S.E., Zharikov A.Yu., Mazko O.N., Makarova O.G., Korenovsky Yu.V., Popovtseva A.V., et al. Vliyanie peptidnogo kompleksa iz tkanej svinykh pochek na pokazateli svobodnoradikal'nogo okisleniya i ekspressiyu TSOГ-1,2 pri eksperimental'noj gastropatii [Influence of the peptide complex from pork kidneys tissues on indicators of free-radical oxidation and the expression of COX-1,2 in experimental gastropathy]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*. [Experimental and clinical gastroenterology]. 2018;6(154):81–85. (In Russian)].
 8. Лоренц С.Э., Жариков А.Ю., Бобров И.П., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Киселев В.И. Гастропротекторное действие пептидного комплекса из тканей свинных почек при экспериментальной «индометациновой» язве у крыс. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2017;6(37):5–9. [Lorents S.E., Zharikov A.Yu., Bobrov I.P., Mazko O.N., Makarova O.G., Kiselyov V.I. Gastroprotektornoe dejstvie peptidnogo kompleksa iz tkanej svinykh pochek pri eksperimental'noj "indometatsinovoj" yazve u krysv [Gastroprotective action of the peptide complex from pig kidneys at experimental "indomethacine" ulcer in rats]. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal* [Siberian Scientific Medical J.]. 2017;6(37):5–9. (In Russian)].
 9. Маев И.В., Лебедева Е.Г. Возможности ингибиторов протонной помпы в терапии гастропатии, индуцированной приемом нестероидных противовоспалительных препаратов у лиц пожилого возраста. *Гастроэнтерология*. 2011;1(Consilium Medicum):16–21. [Maev I.V., Lebedeva E.G. Vozmozhnosti ingibitorov protonnoj pompy v terapii gastropatii, indutsirovannoj priemom nesteroidnykh protivovospalitel'nykh preparatov u lits pozhilogo vozrasta [Possibilities of proton pump inhibitors in the treatment of gastropathy induced by the administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the elderly]. *Gastroenterologiya* [Gastroenterology]. 2011;1(Consilium Medicum):16–21. (In Russian)].
 10. Саватеева-Любимова Т.Н., Сивак К.В., Малинин В.В. Гастропротекторная активность аналогов дипептида глутамил-триптофана и мелатонина. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2012;2(75):17–21. [Savateeva-Lyubimova T.N., Sivak K.V., Malinin V.V. Gastroprotektornaya aktivnost' analogov dipeptida glutamil-triptofana i melatonina [Gastroprotective activity of modified glutamyl-tryptophan dipeptide analogues and melatonin]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya* [Experimental and clinical pharmacology]. 2012;2(75):17–21. (In Russian)].
 11. Фалалеева Т.М., Самонина Г.Е., Берегова Т.В., Кучеренко М.И., Андреева Л.А. Влияние пролин-содержащих пептидов pro-gly-pro и его метаболитов Gly-Pro и pro-gly на желудочную секрецию кислоты у крыс. *Мир медицины и биологии*. 2010;2(6):189–

193. [Falalyeyeva T.M., Samonina G.E., Berego-va T.V., Kucherenko M.I., Andreeva L.A. Vliyaniye prolin-soderzhashchih peptidov pro-gly-pro i ego metabolitov Gly-Pro i pro-gly na zheludochnyuyu sekretsiyu kisloty u krya [The influence of Prolyne-containing peptides pro-gly-pro and its metabolites Gly-Pro and pro-gly on gastric acid secretion in rats]. *Mir mediciny i biologii [World of medicine and biology]*. 2010;2(6):189–193. (In Russian)].

12. Циммерман Я.С. Язвенная болезнь: Актуальные проблемы этиологии, патогенеза, дифференцированного лечения. *Клиническая медицина*. 2012;8(90):11–18. [Tsimmerman Ya.S. Yazvennaya bolezni': Aktual'nye problemy etiologii, patogeneza, differentsirovannogo lecheniya [Ulcer disease: Challenging problems of etiology, pathogenesis, differentiated treatment]. *Klinicheskaya medicina [Clinical medicine]*. 2012;8(90):11–18. (In Russian)].

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Жариков Александр Юрьевич, д.б.н., доц., ФГБОУ «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: zharikov_a_y@mail.ru

Aleksandr Yu. Zharikov, Dr. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Altai State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: zharikov_a_y@mail.ru

Лоренц Самира Эльшадовна*, ФГБОУ «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: pharm_s@mail.ru

Samira E. Lorents*, Altai State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: pharm_s@mail.ru

Бобров Игорь Петрович, д.м.н., проф., ФГБОУ «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: ig.bobrov2010@yandex.ru

Igor P. Bobrov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Altai State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: ig.bobrov2010@yandex.ru

Мазко Олеся Николаевна, к.б.н., ФГБОУ «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: olesia-mazko@yandex.ru

Olesya N. Mazko, Cand. Sci. (Biol.), Altai State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: olesia-mazko@yandex.ru

Макарова Олеся Геннадьевна, к.ф.н., ФГБОУ «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России

Olesya G. Makarova, Cand. Sci. (Pharm.), Altai State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Журнал «Биомедицина» принимает для публикации рукописи оригинальных научных работ обзорного, экспериментального и учебно-методического плана, не публиковавшиеся ранее в других изданиях.

Приоритетные области и задачи научных исследований:

- разработка и внедрение новых биомедицинских технологий;
- биологическое, математическое и релевантное моделирование живых систем;
- генетическая, микробиологическая, экологическая стандартизация лабораторных животных в соответствии с рекомендациями GLP и российскими нормативами;
- доклинические, клинические испытания и экспертиза лекарственных и иммунологических средств;
- создание ДНК-конструкций и новых методов генетической модификации с целью получения трансгенных, нокаутных и гуманизированных видов животных-моделей;
- проблемы репрезентативности, воспроизводимости и экстраполяции на человека данных, полученных в биомедицинских экспериментах.

С марта 2010 года журнал «Биомедицина» включен в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук и ученой степени кандидата наук (Перечень ВАК при Минобрнауки России).

В соответствии с решением ВАК от 15 июня 2017 года № 1-пл/1 (Приложение 2) предпочтение при публикации в журнале имеют научные труды, выполненные по специальностям *медико-биологические науки, физиология, фармацевтические науки, ветеринария и зоотехния*.

Рубрикация журнала, актуальные разделы, требования к оформлению представляемых рукописей, порядок рецензирования и сроки опубликования работ отражены в Правилах направления, рецензирования и опубликования рукописей научных работ в журнале «Биомедицина».

Во исполнение вышеуказанного решения ВАК при Минобрнауки России учредитель

научного журнала «Биомедицина» — ФГБУН НЦБМТ ФМБА России обеспечивает проверку представляемых к опубликованию рукописей на наличие неправомерных заимствований путем получения от авторов и организаций, направляющих рукопись научной работы в редакцию, информации в сопроводительных документах о нижеследующем:

- подтверждают, что работа нигде ранее не была опубликована, не направлялась и не будет направляться для опубликования в другие научные издания;
- гарантируют соблюдение авторских прав;
- несут ответственность за неправомерное использование в научной статье объектов интеллектуальной собственности, объектов авторского права в полном объеме в соответствии с действующим законодательством РФ;
- передают на неограниченный срок учредителю журнала неисключительные права на использование научной статьи путем размещения полнотекстовых сетевых версий номеров на сайте журнала в информационно-телекоммуникационной сети Интернет;
- гарантируют возможность опубликования результатов работы в открытой печати;
- выражают безусловное согласие с правилами подготовки рукописи к изданию, утвержденными редакцией журнала «Биомедицина», опубликованными и размещенными на официальном сайте журнала.

В случае обнаружения нарушений данных гарантий и обязательств наступает полное прекращение дальнейшего сотрудничества, а также иная ответственность, предусмотренная законами РФ.

Рукописи, не отвечающие перечисленным требованиям, не рассматриваются и не возвращаются. Редакция оставляет за собой право принимать решение о публикации рукописи, производить редакционные изменения и сокращения, стилистическую правку, а также переносить статью в другой раздел или номер журнала.

За публикацию статей плата не взимается и гонорар не выплачивается. После опубликования статьи авторам высылаются бесплатно один экземпляр журнала.

Полная информация по журналу представлена на сайте <http://www.scbmt.ru> (раздел «Журнал “Биомедицина”»).

Лабораторкорм

*Более десяти лет коллектив нашей организации обеспечивает высококачественным **комбикормом для лабораторных животных** научные медицинские и учебные учреждения России.*

Реализуем:

- ✓ Оборудование для вивариев (клетки-стеллажи и др.);
- ✓ Подстилочный материал из древесной стружки;
- ✓ Зерно: пшеница, овес, ячмень,
- ✓ Премиксы.

НАШИ КОРМА
полнорацонные,
сбалансированные по
аминокислотному составу,
минералам и витаминам



Доставка в любой регион России

Наш адрес: Москва, 2-й Вязовский проезд, д. 16, стр. 10

ООО «Лабораторкорм»

Телефоны: (495) 972-99-72, 972-16-87, 220-01-23

www.laboratorkorm.ru

ЛАБОРАТОРИЯ ФАРМАКОГЕНЕТИКИ ФГБУН НЦБМТ ФМБА РОССИИ

В лаборатории фармакогенетики (зав. лаб. — Петрова Наталья Владимировна) выполняются молекулярно-генетические исследования животных, в т. ч. создаваемых в НЦБМТ трансгенных гуманизированных линий животных-моделей, позволяющие охарактеризовать и оценить их генетический статус.

Задачи лаборатории:

- ✓ Разработка и оптимизация методологических подходов с применением ПЦР тест-систем в режиме «real-time» для заданных генов-мишеней, электрофоретической детекции, секвенирования и т. д.
- ✓ Анализ генетической однородности и микробиологической чистоты (SPF-статуса), контроль здоровья животных.
- ✓ Проведение фармакогенетических исследований влияния медицинских средств на организм животного на молекулярном уровне.

