

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

ISSN 2074-5982 (print)  
ISSN 2713-0428 (online)

# БИОМЕДИЦИНА

SCIENTIFIC JOURNAL

JOURNAL BIOMED

Том (Vol.) 18  
2022

1



## Уважаемые коллеги!

Приглашаем Вас принять участие в XVIII ежегодной научно-практической конференции «Биомедицина и биомоделирование», которая будет проводиться 25–26 мая 2022 г. в Научном центре биомедицинских технологий ФМБА России по адресу:

143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, владение 1;  
тел.: (495) 561-52-64; e-mail: info@scbmt.ru, scbmt@yandex.ru

### Секции Конференции:

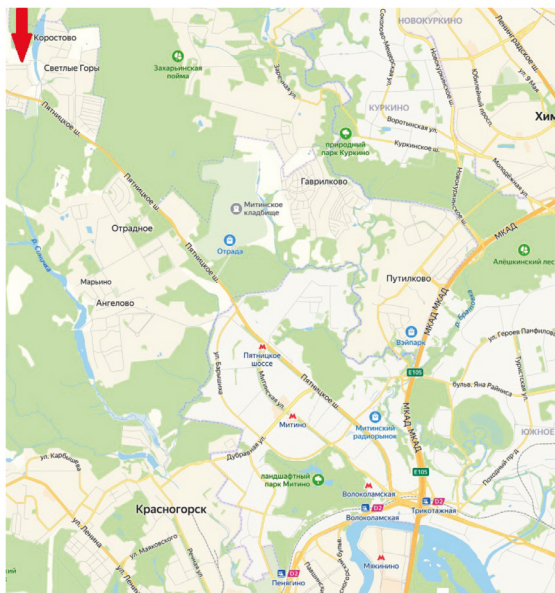
- *Биомоделирование в живых системах;*
- *Биомоделирование и пути коррекции COVID-зависимых патологий;*
- *Трансгенез и получение трансгенных и нокаутных животных;*
- *Генномодифицированные животные в биомедицинском эксперименте;*
- *Биотехнологии и стандартизация БАВ и лекарственных средств природного происхождения;*
- *Фармакология здорового человека и лекарственная профилактика*

В рамках конференции предусматривается проведение секций молодых ученых, студентов и школьников.

Участие в конференции предполагается в двух форматах: он-лайн и традиционном. Лучшие из работ будут опубликованы в журнале «Биомедицина».

Время для доклада на пленарном заседании: 20 мин, на секциях – 10 мин. Возможно представление стендовых докладов.

Заявки на участие с указанием фамилии, имени, отчества (полностью) авторов, учреждения и названия доклада, а также материалы в виде кратких сообщений, оформленных в соответствии с правилами для авторов, опубликованными на сайте журнала «Биомедицина» (<https://journal.scbmt.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>), предоставляются до **15 апреля 2022 г.**



### СХЕМА ПРОЕЗДА:

Проезд от станции метро «Пятницкое шоссе» на автобусе 575, 32- (прямой), маршрутном такси 164к, 575, 1016, 1212к, «Митино-Брѐхово» до остановки «Марьино-Знаменское», далее пешком до Центра через посѐлок, на автобусе 32 (с заездом в Светлые горы) до остановки «Светлые горы». На автомобиле: по Пятницкому шоссе (6 км от МКАД) до поворота на Светлые горы, мимо пруда до магазина, после него поворот по указателю налево, между двух прудов по дамбе прямо до Центра.

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий  
ФМБА России»

# БИОМЕДИЦИНА

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2005 г.  
4 выпуска в год

---

2022, Том 18, № 1

---

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

# JOURNAL BIOMED

SCIENTIFIC JOURNAL

Published since 2005.  
Quarterly.

---

2022, Vol. 18, No. 1

---



# БИОМЕДИЦИНА

Biomeditsina

---

Научный журнал «Биомедицина» основан в 2005 году Научным центром биомедицинских технологий. Журнал издаётся на русском и английском языках. В журнале публикуются исследования по новым биомедицинским технологиям, моделям и методам исследований, конструированию новых линий животных-моделей (в том числе трансгенных, нокаутных, эпигеномных), эпигенетическим аспектам в биомедицине, экспериментальной и спортивной фармакологии, фармнутриентам, восстановительной медицине, биомедицинским аспектам клинической фармакологии. Журнал ориентирован на специалистов в области биологии, медицины, биомедицины и ветеринарии. В журнале опубликованы статьи авторов более чем из 200 различных организаций, география которых включает в себя практически всю Россию, а также Беларусь, Казахстан, Грузию, Украину, Нидерланды, Болгарию.

---

## ■ Главный редактор

**Каркищенко Николай Николаевич**, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, акад. РАРАН и Международной академии астронавтики (Париж)

## ■ Заместители главного редактора

**Каркищенко Владислав Николаевич**, д.м.н., проф.

**Помыткин Игорь Анатольевич**, к.х.н.

## ■ Ответственный секретарь

**Алимкина Оксана Владимировна**

## ■ Члены редакционного совета

**Анохин Константин Владимирович**, д.м.н., проф., акад. РАН (Москва, Россия)

**Ачкасов Евгений Евгеньевич**, д.м.н., проф. (Москва, Россия)

**Баранов Виктор Михайлович**, д.м.н., проф., акад. РАН (Москва, Россия)

**Быков Анатолий Тимофеевич**, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН (Сочи, Россия)

**Влахос Витан**, д.м.н., проф., акад. Болгарской академии наук и искусств (София, Болгария)

**Воевода Михаил Иванович**, д.м.н., проф., акад. РАН (Новосибирск, Россия)

**Галенко-Ярошевский Павел Александрович**, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН (Краснодар, Россия)

**Дубина Михаил Владимирович**, д.м.н., акад. РАН (Санкт-Петербург, Россия)

**Дыгай Александр Михайлович**, д.м.н., проф., акад. РАН (Томск, Россия)

**Зефиоров Андрей Львович**, д.м.н., проф., акад. РАН (Казань, Россия)

**Кит Олег Иванович**, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН (Ростов-на-Дону, Россия)

**Кузденбаева Раиса Салмаганбетовна**, д.м.н., проф., акад. НАН Казахстана (Нур-Султан, Казахстан)

**Кукес Владимир Григорьевич**, д.м.н., проф., акад. РАН (Москва, Россия)

**Макляков Юрий Степанович**, д.м.н., проф. (Ростов-на-Дону, Россия)

**Максимович Наталия Евгеньевна**, д.м.н., проф. (Гродно, Республика Беларусь)

**Матишов Геннадий Григорьевич**, д.г.н., проф., акад. РАН (Ростов-на-Дону, Россия)

**Мирошников Анатолий Иванович**, д.х.н., акад. РАН (Москва, Россия)

**Мурашёв Аркадий Николаевич**, д.б.н., проф. (Пушино, Московская обл., Россия)

**Оковитый Сергей Владимирович**, д.м.н., проф. (Санкт-Петербург, Россия)

**Пинелис Всеволод Григорьевич**, д.м.н., проф. (Москва, Россия)

**Пчелинцев Сергей Юрьевич**, д.м.н., проф. (Любучаны, Московская обл., Россия)

**Раменская Галина Владиславовна**, д.фарм.н., проф. (Москва, Россия)

**Рембовский Владимир Романович**, д.м.н., проф. (Кузьмоловский, Ленинградская обл., Россия)

**Решетов Игорь Владимирович**, д.м.н., проф., акад. РАН (Москва, Россия)

**Сафроненко Андрей Владимирович**, д.м.н., проф. (Ростов-на-Дону, Россия)

**Сычёв Дмитрий Алексеевич**, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН (Москва, Россия)

**Хритинин Дмитрий Фёдорович**, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН (Москва, Россия)

**Цыганков Борис Дмитриевич**, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН (Москва, Россия)

**Цысь Валентина Ивановна**, д.с.-х.н., проф., акад. РАЕН (Смоленск, Россия)

**Ших Евгения Валерьевна**, д.м.н., проф. (Москва, Россия)

**Шустов Евгений Борисович**, д.м.н., проф., акад. РАЕН (Санкт-Петербург, Россия)

# БИОМЕДИЦИНА

Biomeditsina

<b>История издания журнала:</b>	Журнал издается с 2005 г.
<b>Периодичность:</b>	4 выпуска в год
<b>Префикс DOI:</b>	10.33647
<b>ISSN</b>	2074-5982 (Print) 2713-0428 (Online)
<b>Свидетельство о регистрации СМИ:</b>	Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати. Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС77-21324 от 09.06.2005
<b>Индексация:</b>	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
<b>Подписной индекс:</b>	57995 в объединенном каталоге «Пресса России»
<b>Стоимость одного выпуска:</b>	400 руб.
<b>Условия распространения материалов:</b>	Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License
<b>Учредитель:</b>	ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» 143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, влд. 1
<b>Издатель:</b>	ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» 143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, влд. 1
<b>Редакция:</b>	143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, влд. 1 Тел.: +7 (495) 561-52-64 E-mail: <a href="mailto:info@scbmt.ru">info@scbmt.ru</a> , <a href="mailto:scbmt@yandex.ru">scbmt@yandex.ru</a>
<b>Тираж:</b>	3000 экземпляров
<b>Типография:</b>	ООО «БЕАН» 603003, Нижегородская обл., Нижний Новгород, ул. Баррикад, д. 1
<b>Дата выхода в свет:</b>	10.03.2022

# JOURNAL BIOMED

---

The scientific journal “Journal Biomed” was founded in 2005 by the Scientific Center of Biomedical Technologies. The journal is published in Russian and English. The journal publishes research on new biomedical technologies, research models and methods, the construction of new lines of animal-models (including transgenic, knock-out, epigenomic), epigenetic aspects in biomedicine, experimental and sports pharmacology, pharmaceutical ingredients, rehabilitation medicine, biomedical aspects of clinical pharmacology. The journal is aimed at specialists in the field of biology, medicine, biomedicine and veterinary medicine. The journal published articles by authors from more than 200 different organizations, the geography of which includes almost all Russia, and Belarus, Kazakhstan, Georgia, Ukraine, Netherlands, Bulgaria.

---

## ■ Editor-in-Chief

**Nikolay N. Karkischenko**, Dr. Sci. (Med.), Prof., A.M. of the RAS, Acad. of the Russian Academy of Rocket and Artillery Sciences and International Academy of Astronautics (Paris)

## ■ Deputy Editors-in-Chief

**Vladislav N. Karkischenko**, Dr. Sci. (Med.), Prof.

**Igor A. Pomytkin**, Cand. Sci. (Chem.)

## ■ Executive Secretary

**Oksana V. Alimkina**

## ■ Members of Editorial Council

**Konstantin V. Anokhin**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the RAS (Moscow, Russia)

**Evgeniy E. Achkasov**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia)

**Viktor M. Baranov**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the RAS (Moscow, Russia)

**Anatoliy T. Bykov**, Dr. Sci. (Med.), Prof., A.M. of the RAS (Sochi, Russia)

**Vitan Vlahov**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the Bulgarian Academy of Sciences and Arts (Sofia, Bulgaria)

**Mikhail I. Voevoda**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the RAS (Novosibirsk, Russia)

**Pavel A. Galenko-Yaroshevskiy**, Dr. Sci. (Med.), Prof., A.M. of the RAS (Krasnodar, Russia)

**Mikhail V. Dubina**, Dr. Sci. (Med.), A.M. of the RAS (Saint Petersburg, Russia)

**Aleksandr M. Dygay**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the RAS (Tomsk, Russia)

**Andrey L. Zefirov**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the RAS (Kazan, Russia)

**Oleg I. Kit**, Dr. Sci. (Med.), Prof., A.M. of the RAS (Rostov-on-Don, Russia)

**Raisa S. Kuzdenbayeva**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan (Nur-Sultan, Kazakhstan)

**Vladimir G. Kukes**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the RAS (Moscow, Russia)

**Yuriy S. Maklyakov**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Rostov-on-Don, Russia)

**Nataliya Ye. Maksimovich**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Grodno, Republic of Belarus)

**Gennadiy G. Matishov**, Dr. Sci. (Geograph.), Prof., Acad. of the RAS (Rostov-on-Don, Russia)

**Anatoliy I. Miroshnikov**, Dr. Sci. (Chem.), Prof., Acad. of the RAS (Moscow, Russia)

**Arkadiy N. Murashev**, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Pushchino, Moscow Region, Russia)

**Sergey V. Okovityi**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Saint Petersburg, Russia)

**Vsevolod G. Pinelis**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia)

**Sergey Yu. Pchelintsev**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Lyubuchany, Moscow Region, Russia)

**Galina V. Ramenskaya**, Dr. Sci. (Pharm.), Prof. (Moscow, Russia)

**Vladimir R. Rembovsky**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Kuzmolovskiy, Leningrad Region, Russia)

**Igor V. Reshetov**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the RAS (Moscow, Russia)

**Andrey V. Safronenko**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Rostov-on-Don, Russia)

**Dmitriy A. Sychev**, Dr. Sci. (Med.), Prof., A.M. of the RAS (Moscow, Russia)

**Dmitriy F. Khritinin**, Dr. Sci. (Med.), Prof., A.M. of the RAS (Moscow, Russia)

**Boris D. Tsygankov**, Dr. Sci. (Med.), Prof., A.M. of the RAS (Moscow, Russia)

**Valentina I. Tsys**, Dr. Sci. (Agricult.), Prof., Acad. of the Russian Academy of Natural Sciences (Smolensk, Russia)

**Evgenia V. Shikh**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia)

**Evgeniy B. Shustov**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the Russian Academy of Natural Sciences (Saint Petersburg, Russia)

# JOURNAL BIOMED

<b>Founded:</b>	The journal has been published since 2005.
<b>Frequency:</b>	Quarterly
<b>DOI Prefix:</b>	10.33647
<b>ISSN</b>	2074-5982 (Print) 2713-0428 (Online)
<b>Mass media registration certificate:</b>	Registered at the State Committee of the Russian Federation on Press under the number ПИ № ФС77-21324 of 09.06.2005
<b>Indexing:</b>	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)
<b>Subscription index:</b>	57995 in the combined catalogue "Pressa Rossii"
<b>Price:</b>	400 RUR
<b>Content distribution terms:</b>	Content is distributed under Creative Commons Attribution 4.0 License
<b>Founders:</b>	Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia 143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1
<b>Publisher:</b>	Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia 143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1
<b>Editorial office:</b>	143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1 Tel.: +7 (495) 561-52-64 E-mail: <a href="mailto:info@scbmt.ru">info@scbmt.ru</a> , <a href="mailto:scbmt@yandex.ru">scbmt@yandex.ru</a>
<b>Circulation:</b>	3000 copies
<b>Printing house:</b>	BEAN, LLC. 603003, Russian Federation, Nizhny Novgorod Region, Nizhny Novgorod, Barrikad Street, 1
<b>Publication date:</b>	10.03.2022

■ МЕТОДЫ И ТЕХНОЛОГИИ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**М.В. Ковальчук, Н.Н. Каркищенко, Д.Б. Чайванов, Ю.А. Чудина, А.А. Николаев, А.А. Варганов**

Электрооптический метод диагностики нарушений кровоснабжения  
головного мозга человека . . . . . 8

**В.Н. Каркищенко, И.А. Помыткин, Н.В. Петрова, Н.В. Станкова, О.В. Алимкина, Ю.В. Фокин, А.М. Зубалий, Н.А. Ларюшина, И.А. Васильева**

Истошающая физическая нагрузка вызывает многократное повышение транскрипции гена *HMGB1* в лимфоцитах мини-пигов . . . . . 22

■ ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОМЕДИЦИНЕ

**В.Н. Каркищенко, Ю.В. Фокин, С.Л. Люблинский, И.А. Помыткин, О.В. Алимкина, Л.А. Таболякова, А.В. Капцов, М.М. Борисова, Н.Н. Каркищенко**

Центральные механизмы липосомированных форм ацетилхолина и инсулина посредством анализа когнитивных, психоэмоциональных и поведенческих параметров крыс . . . . . 32

**К.В. Маркова, Я.Г. Разуваева, А.А. Торопова, Д.Н. Оленников**

Морфологическая оценка нейропротективного действия экстрактов сухих *Rhaponticum uniflorum* и *Serratula centauroides* при гипоксии/реоксигенации . . . . . 56

**К.С. Остренко, А.Н. Овчарова, О.П. Егорова**

Определение параметров острой токсичности препарата Эпофен группы антигипоксантов . . . . . 63

**А.Л. Ясенявская, М.А. Самотруева, Г.Н. Генатуллина, А.О. Лендов, Л.А. Андреева, Н.Ф. Мясоедов**

Влияние меланокортинов на интенсивность перекисного окисления липидов в иммунокомпетентных органах крыс-самцов в условиях информационного стресса . . . . . 67



## ■ METHODS AND TECHNOLOGIES OF BIOMEDICAL RESEARCH

- Mikhail V. Kovalchuk, Nikolay N. Karkischenko, Dmitry B. Chaivanov, Yulia A. Chudina, Andrey A. Nikolaev, Alexander A. Vartanov**  
Electrooptical Diagnostic Method of Blood Supply Disorders  
in the Human Brain . . . . . 8
- Vladislav N. Karkischenko, Igor A. Pomytkin, Nataliya V. Petrova, Nataliia V. Stankova, Oksana V. Alimkina, Yuriy V. Fokin, Anastasiya M. Zubaliy, Nadezhda A. Laryushina, Irina A. Vasil'eva**  
Exhausting Physical Exercise Causes a Multiple Increase in the Transcription  
of *HMGB1* Gene in Mini Pigs' Lymphocytes . . . . . 22

## ■ PRECLINICAL RESEARCH IN BIOMEDICINE

- Vladislav N. Karkischenko, Yuriy V. Fokin, Stanislav L. Lyublinskiy, Igor A. Pomytkin, Oksana V. Alimkina, Lidiya A. Taboyakova, Alexander V. Kaptsov, Mariya M. Borisova, Nikolay N. Karkischenko**  
Central Mechanisms of Liposomated Forms of Acetylcholin and Insulin Revealed  
by an Analysis of Cognitive, Psycho-Emotional and Behavioral Parameters of Rats. . . . . 32
- Kristina V. Markova, Yanina G. Razuvaeva, Anyuta A. Toropova, Daniil N. Olennikov**  
Morphological Assessment of the Neuroprotective Effects of *Rhaponticum uniflorum*  
and *Serratula centauroides* Dry Extracts in Hypoxia/Reoxygenation . . . . . 56
- Konstantin S. Ostrenko, Anastasia N. Ovcharova, Olga P. Egorova**  
Determination of the Parameters of Acute Toxicity of the Epophen Antihypoxant Drug  
on Laboratory Animals . . . . . 63
- Anna L. Yasenyavskaya, Marina A. Samotrueva, Guzel N. Genatullina, Andrey O. Lendov, Lyudmila A. Andreeva, Nikolay F. Myasoedov**  
Effects of Melanocortins on the Intensity of Lipid Peroxidation in Immunocompetent Organs  
of Male Rats under Informational Stress . . . . . 67



## ЭЛЕКТРООПТИЧЕСКИЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЙ КРОВΟΣНАБЖЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

М.В. Ковальчук<sup>1</sup>, Н.Н. Каркищенко<sup>2</sup>, Д.Б. Чайванов<sup>1\*</sup>, Ю.А. Чудина<sup>1</sup>,  
А.А. Николаев<sup>1</sup>, А.А. Вартанов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»  
123182, Российская Федерация, Москва, пл. Академика Курчатова, 1

<sup>2</sup> ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»  
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, 1

В настоящей работе описан новый метод диагностики нарушений кровоснабжения головного мозга, основанный на физико-математических, биомедицинских, психофизиологических методах и информационных технологиях. Предложенный метод состоит в сравнении и выявлении степени соответствия длительности сердечного цикла, регистрируемой методами электрокардиографии и фотоплетизмографии. Методом электрокардиографии сердечный цикл фиксировали в виде длительности кардиоинтервалов, которые отражают преимущественно интракардиальные регуляторные механизмы; метод фотоплетизмографии использовали для записи сердечного цикла в виде длительности пульсовых волн, которые являются отражением экстракардиальных механизмов регуляции сердечно-сосудистой системы. Первоначально значения длительности кардиоинтервалов и пульсовых волн сравнивали у здоровых добровольцев, при записи электросигнала в стандартном отведении и фотосигнала в трёх разных отведениях обнаружили наибольшее совпадение при записи фотоплетизмограммы от ушного датчика. Далее сравнение длительности кардиоинтервалов и пульсовых волн проводили на примере патологических состояний, сопровождающихся нарушениями кровоснабжения головного мозга, среди которых рассматривали синдром позвоночной артерии при остеохондрозе шейного отдела позвоночника и синдром вегетативной дисфункции. Обнаружили уменьшение степени совпадения длительности кардиоинтервалов и пульсовых волн у добровольцев с рассмотренными патологиями по сравнению с нормой. Затем определили принадлежность к группе нормы и к группам с рассмотренными патологиями. Наконец, на основе результатов дискриминантного анализа удалось выявить набор показателей, позволяющих различать три рассмотренные группы между собой.

**Ключевые слова:** нарушения кровоснабжения головного мозга, синдром позвоночной артерии при остеохондрозе шейного отдела позвоночника, синдром вегетативной дисфункции, длительность кардиоинтервалов, длительность пульсовой волны, электрокардиограмма, фотоплетизмограмма

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Ковальчук М.В., Каркищенко Н.Н., Чайванов Д.Б., Чудина Ю.А., Николаев А.А., Вартанов А.А. Электрооптический метод диагностики нарушений кровоснабжения головного мозга человека. *Биомедицина*. 2022;18(1):8–21. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-1-8-21>

Поступила 08.11.2021

Принята после доработки 14.02.2021

Опубликована 10.03.2022

## ELECTROOPTICAL DIAGNOSTIC METHOD OF BLOOD SUPPLY DISORDERS IN THE HUMAN BRAIN

Mikhail V. Kovalchuk<sup>1</sup>, Nikolay N. Karkischenko<sup>2</sup>, Dmitry B. Chaivanov<sup>1,\*</sup>,  
Yulia A. Chudina<sup>1</sup>, Andrey A. Nikolaev<sup>1</sup>, Alexander A. Vartanov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Research Centre "Kurchatov Institute"  
123182, Russian Federation, Moscow, Akademika Kurchatova Square, 1

<sup>2</sup> Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia  
143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1

The article describes stages in the development of an electrooptical method for diagnosing blood supply disorders in the human brain. The proposed method is based on the comparison and identification of the correspondence of cardiac cycle durations recorded by electrocardiography and photoplethysmography. Electrocardiography was used to record the cardiac cycle as the duration of cardiointervals, which reflect mainly intracardial regulatory mechanisms. Photoplethysmography was used to record the cardiac cycle as the duration of pulse waves, which reflect extracardial regulative mechanisms of the cardiovascular system. Initially, the duration of cardiointervals and pulse waves were recorded and compared in healthy volunteers. The most pronounced coincidence was observed when recording a photoplethysmogram from an ear sensor. Further, the obtained data was compared with that recorded in pathological conditions accompanied by impaired blood supply to the brain, including vertebral artery syndrome in cervical spine osteochondrosis and autonomic dysfunction syndrome. A decrease in the degree of correspondence between the durations of cardiac intervals and pulse waves was found in volunteers with the considered pathologies compared to the norm. Subsequently, based on the duration of cardiac intervals and pulse waves, the volunteers were divided into three groups: the norm group and two groups of the considered pathologies. Finally, based on the results of a discriminant analysis, a set of indicators was identified, allowing the three groups to be differentiated.

**Keywords:** brain blood supply disorders, spinal artery syndrome in cervical spine osteochondrosis, autonomic dysfunction syndrome, cardio interval duration, pulse wave duration, electrocardiogram, photoplethysmogram

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

**For citation:** Kovalchuk M.V., Karkischenko N.N., Chaivanov D.B., Chudina Yu.A., Nikolaev A.A., Vartanov A.A. Electrooptical Diagnostic Method of Blood Supply Disorders in the Human Brain. *Journal Biomed.* 2022;18(1):8–21. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-1-8-21>

Submitted 08.11.2021

Revised 14.02.2022

Published 10.03.2022

### Введение

Электрооптический метод предназначен для диагностики сосудистых нарушений, проявляющихся как самостоятельные заболевания или как симптомы различных соматических патологий. Главным преимуществом нового метода электрооптической диагностики, в отличие от всех используемых в настоящее время методов диа-

гностики сосудов, является возможность осуществления холтеровского мониторинга их состояния. Холтеровское мониторирование позволяет осуществлять непрерывную фиксацию состояния сосудов в течение суток или дольше, проводить её вне стен медицинского стационара, а также в условиях физической активности.

Ещё одно преимущество электрооптического метода состоит в том, что он подходит для ранней диагностики патологий сосудов головного мозга и может применяться для выявления доклинической стадии сосудистых нарушений, заменяя такие сложные аппаратные методы, как ультразвуковая и магнитно-резонансная диагностика, ангиография и т. п. В этой связи перспективным является изучение возможности использования электрооптического метода для выявления сосудистых нарушений различных органов и тканей, являющихся начальными признаками их патологических изменений.

Создание электрооптического метода было связано с обнаружением расхождений в продолжительности сердечного цикла, записанной методами электрокардиограммы и фотоплетизмограммы. Такого рода расхождения фиксировали и ранее, но они всегда считались артефактом и их связывали с особенностями записи электрических и фото сигналов [17]. Первоначально мы также придерживались данной традиционной точки зрения, и результаты нашего исследования на здоровых добровольцах являются тому подтверждением [19]. Однако экспериментально обнаруженное несоответствие между длительностью кардиоинтервалов и пульсовых волн при патологиях, сопровождающихся недостаточностью кровоснабжения головного мозга [8, 13], позволило рассматривать это несоответствие как признак нарушения механизмов регуляции сердечно-сосудистой системы. Проведённый дискриминантный анализ позволил выявить критерии, по которым начальные проявления недостаточности мозгового кровоснабжения можно отличить от нормы [14].

Электрооптический метод был апробирован на примере патологий, представляющих начальную стадию недостаточности кровоснабжения головного мозга, которая характеризуется нарушениями регуляторных механизмов. Следовательно, данный

метод является пригодным для диагностики различных заболеваний и патологических состояний, сопровождающихся расстройством механизмов регуляции сердечно-сосудистой системы. Кроме того, в силу особенностей регистрации (комфорт для пациентов) и простоты обработки данных электрооптический метод может быть использован в варианте как длительного непрерывного мониторинга, так и экспресс-диагностики.

Поиск возможностей применения электрооптического метода для диагностики не только нарушений, затрагивающих интракардиальные и экстракардиальные механизмы регуляции, заболеваний сердечно-сосудистой системы, но и широкого спектра других патологий является новым и перспективным направлением биомедицинских исследований.

### **Патологии, связанные с нарушениями кровоснабжения головного мозга**

Актуальность разработки методов ранней диагностики нарушения кровоснабжения головного мозга обусловлена, с одной стороны, ростом количества таких нарушений среди трудоспособного населения развитых стран, а с другой стороны — наибольшей эффективностью профилактических мер и терапии на ранних стадиях развития патологии.

В настоящее время самыми распространёнными являются заболевания сердечно-сосудистой системы, на долю которых приходится более 50% от общего числа летальных исходов, в большинстве случаев происходящих по причине цереброваскулярной патологии [6]. Показатель смертности вследствие цереброваскулярной патологии в России является одним из самых высоких в мире и занимает второе место в общей структуре смертности населения нашей страны [12].

Традиционно ишемические поражения головного мозга, связанные с нарушениями

ми мозгового кровообращения, считаются присущими людям пожилого и старческого возраста. Однако, согласно современным данным, более 10% острых нарушений мозгового кровообращения обнаруживаются у лиц в возрасте от 15 до 45 лет [24], представляющих трудоспособную группу населения. Острые нарушения мозгового кровообращения плохо поддаются лечению и требуют длительной реабилитации, что делает целесообразным проведение диагностических и терапевтических мероприятий на ранних стадиях развития цереброваскулярных заболеваний.

Признаками начальной стадии развития цереброваскулярных заболеваний являются начальные проявления недостаточности кровоснабжения головного мозга (НПНКМ), которые со временем преобразуются в хроническую недостаточность мозгового кровообращения. У пациентов данной группы впоследствии развиваются дисциркуляторная энцефалопатия, преходящие нарушения мозгового кровообращения и мозговой инсульт [6].

Основной предпосылкой развития НПНКМ являются общие сосудистые заболевания различного генеза, такие как атеросклероз, артериальная гипертензия, синдром вегетативной дистонии [6] или соматоформная вегетативная дисфункция [2]. В этих случаях патогенез НПНКМ связан с изменениями тонуса и структуры стенок сосудов головного мозга, повышением их проницаемости, изменением реологических свойств и липидного состава крови, общего гормонального статуса, нарушением обмена веществ и т. п.

Предпосылкой развития НПНКМ также может стать вертебробазилярная недостаточность, формирующаяся на фоне нарушений шейного отдела позвоночника, например при шейном остеохондрозе [11, 16].

Экспериментально было показано, что доклиническая стадия дисфункций, приводящих к развитию НПНКМ, среди которых

соматоформная вегетативная дисфункция, остеохондроз шейного отдела позвоночника, артериальная гипертензия, церебральный атеросклероз, ожирение, депрессивные расстройства, характеризуется двухсторонним снижением скорости кровотока по передней мозговой и позвоночной артериям, диффузным гипертонусом магистральных артерий головы со снижением их эластичности в каротидных бассейнах и пульсового кровенаполнения мозга в бассейне левой позвоночной артерии; диффузным гипертонусом артериол и мозговых вен и т. п. [1, 2, 21].

Нарушение кровотока в магистральных артериях головы, в т. ч. в сосудах вертебробазилярной системы, к которой относятся позвоночные артерии, является одной из основных причин недостаточности кровоснабжения головного мозга, часто приводящей к цереброваскулярным нарушениям. Такого рода дисциркуляции в 25% случаев протекают бессимптомно и могут быть обнаружены только при проведении специального многоэтапного обследования. В случае недоступности такого обследования актуальной становится необходимость разработки методов экспресс-диагностики ранних проявлений доклинической стадии НПНКМ.

**Целью** настоящей статьи является описание этапов разработки электрооптического метода, предназначенного для ранней диагностики нарушений кровоснабжения головного мозга по показателям длительности сердечного цикла. Предполагается выявить возможности данного метода и отличать добровольцев с патологиями, сопровождающимися ранними нарушениями кровоснабжения головного мозга, от здоровых добровольцев без каких-либо сосудистых заболеваний.

### **Методические основы электрооптического метода**

Электрооптический метод основан на сопоставлении длительности сердеч-

ного цикла, зафиксированной по данным электрокардиограммы (ЭКГ) и фотоплетизмограммы (ФПГ). С помощью ЭКГ регистрировали длительность кардиоинтервалов (ДКИ) или RR-интервалов в стандартном отведении. ДКИ представляет полный сердечный цикл, связанный с возбуждением синусового узла, и отражает изменения сердечного ритма [7]. Закономерно предположить, что длительность сердечного цикла, фиксированная с помощью метода ЭКГ, отражает реализацию механизмов интракардиальной регуляции сердечно-сосудистой системы.

С помощью метода ФПГ записывали длительность пульсовых волн (ДПВ). Пульсовая волна формируется за счёт выброса крови в сосудистое русло; её пики отражают систолический и диастолический периоды сердечного цикла. По длительности пульсовой волны судят о продолжительности сердечного цикла, продолжительности систолы и частично диастолы и их соотношении [20]. Известно, что в целом продолжительность пульсовой волны зависит от особенностей работы сердца, а величина и форма её пиков определяется состоянием сосудистой стенки [17]. Длительность сердечного цикла, регистрируемая с помощью метода ФПГ, является отражением механизмов преимущественно экстракардиальной регуляции сердечно-сосудистой системы.

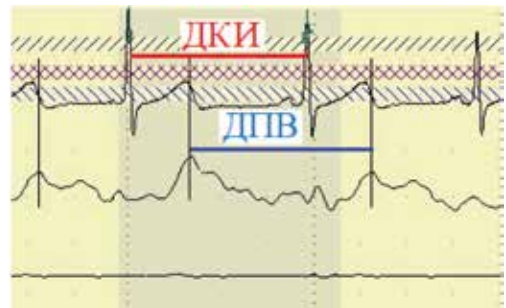
ДКИ и ДПВ являются показателями продолжительности сердечного цикла, зафиксированной соответственно в виде электрической активности сердца и светопроницаемости сосуда в зависимости от его кровенаполнения. В идеальных условиях величины ДКИ и ДПВ должны полностью совпадать, особенно если они будут зафиксированы одновременно. Следовательно, сопоставление ДКИ и ДПВ возможно на основе синхронной записи ЭКГ и ФПГ (рис. 1).

На рис. 1 видно, что при синхронной записи получение данных ФПГ по сравне-

нию с данными ЭКГ происходит с некоторой задержкой. Длительность такой задержки зависит от локализации датчика ФПГ. В обычных условиях кровь достигает пальцевого датчика через 3–5 с, а ушного датчика она достигает через 2–3 с после сердечного сокращения [23]. Длительность задержки получения данных не влияет на сами данные. Таким образом, величины ДКИ и ДПВ должны полностью совпадать вне зависимости от локализации датчиков. Проверка этого положения проводилась на первом этапе разработки электрооптического метода.

### Фиксация длительности сердечного цикла с помощью методов ЭКГ и ФПГ

В экспериментальном исследовании [19] на здоровых добровольцах было показано, что точность совпадения продолжительности сердечного цикла по данным ЭКГ и ФПГ зависит от расположения датчика ФПГ. В качестве показателя степени совпадения длительности сердечного цикла по данным ЭКГ и ФПГ использовали среднеквадратичное отклонение ДКИ от ДПВ.



**Рис. 1.** Пример синхронной записи кардиоинтервалов (сверху) и пульсовых волн (снизу). Красной линией обозначена ДКИ – длительность кардиоинтервала между соседними R пиками; синей линией показана ДПВ – длительность пульсовой волны между соседними пиками волны пульса [13].

**Fig. 1.** An example of synchronous recording of cardio intervals (above) and pulse waves (below). The red line indicates the DCI (ДКИ) – the duration of a cardio interval – between adjacent R peaks; the blue line shows the DPW (ДПВ) – the duration of a pulse wave – between adjacent peaks of the pulse wave [13].



ДПВ фиксировали одновременно от трёх датчиков с разной локализацией: от пальцевого датчика, расположенного на концевой фаланге указательного пальца левой руки; от ушного датчика, расположенного на мочке левого уха; от шейного датчика, расположенного на поверхности шеи в проекции сонной артерии с левой стороны. Наибольшая степень совпадения ДКИ и ДПВ была обнаружена при записи ФПГ от ушного датчика, что позволило сделать вывод о том, что запись данных с этого датчика меньше всего подвержена влиянию случайных факторов.

В данном исследовании также было показано, что степень совпадения ДКИ и ДПВ увеличивалась в зависимости от этапа исследования и не зависела от функционального состояния добровольцев [19].

### **Показатели степени совпадения длительности сердечного цикла, фиксируемой с помощью методов ЭКГ и ФПГ, при патологиях сосудов**

Следующий этап разработки электрооптического метода был посвящён изучению вопроса о том, как повлияют на совпадение ДКИ и ДПВ патологии сосудов. Известно, что характер пульсовой волны зависит не только от сердечной активности, но и от состояния сосудов, которое определяется эластичностью сосудистой стенки, шириной просвета сосудов, извитостью сосудистого русла [17, 20]. Закономерно предположить, что при сосудистых патологиях, сопровождающихся сужением или расширением просвета сосуда, нарушением эластичности сосудистой стенки и изменением скорости кровотока, ДПВ может подвергаться некоторым искажениям.

Для проверки этого предположения необходимо было выбрать патологии, которые отвечали бы следующим условиям: 1) были связаны с нарушением сосудов; 2) представляли доклиническую стадию НПНКМ; 3) имели различную этиологию. Для анали-

за нами были выбраны синдром позвоночной артерии при остеохондрозе шейного отдела позвоночника (ОШОП) и синдром вегетативной дисфункции (СВД), представляющие доклиническую стадию НПНКМ, диагностика которой важна для первичной профилактики инсульта [1].

Нарушения мозгового кровообращения при ОШОП возникают в результате смещения или сдавливания позвоночных артерий и их нервных элементов. Раздражение периадвертебрального симпатического сплетения деформированными крючковидными образованиями приводит к рефлекторному сужению позвоночной артерии [18]. Раздражение позвоночного нерва, повышая тонус позвоночной артерии, может уменьшать скорость кровотока в ней на 1/3 от исходной величины, а длительное воздействие на сосудистую стенку становится причиной образования атеросклеротических бляшек в позвоночной артерии [4]. В результате развивается ангиодистоническое состояние и ограничение кровотока по всей вертебробазиллярной системе [15, 16, 21].

Нарушения мозгового кровообращения при СВД развиваются в результате нарушения нейрогуморальной регуляции деятельности внутренних органов, в т. ч. сердечно-сосудистой системы [5]. Причинами таких нейрогуморальных нарушений считают наследственные и приобретённые особенности активности вегетативной нервной системы, проявляющиеся в виде надсегментарных вегетативных расстройств, преимущественно ваготонических [9, 22]. СВД является причиной начальных стадий хронической ишемии мозга, возникающей на фоне недостаточности его кровоснабжения, которое обусловлено гипертонусом парасимпатической нервной системы, гипокинетическим типом центрального кровообращения; двусторонним снижением линейных скоростей кровотока по передней и средней мозговым артериям; ангио-

дистоническим типом церебральной гемодинамики [2, 3].

Экспериментальное исследование длительности сердечного цикла по данным ЭКГ и ФПГ проводили на добровольцах с ОШОП и СВД [8, 13]. В этих исследованиях были выявлены показатели, отражающие степень совпадения ДКИ и ДПВ в норме и при таких патологиях, как СВД и ОШОП, представляющих доклиническую стадию НПНКМ.

Два показателя, отражающие степень различия между ДКИ и ДПВ, — это мера различия (МР) и квадрат меры различия (КМР). КМР вычисляли как среднее арифметическое суммы квадратов разностей ДКИ и ДПВ, а МР вычисляли как корень квадратный из КМР. Показатели КМР и МР отражают, насколько различаются между собой ДКИ и ДПВ: чем больше значение данных показателей, тем больше отличается длительность сердечного цикла, зафиксированная по данным ЭКГ и ФПГ. Значения показателей КМР и МР минимальны (стремятся к нулю) у здоровых добровольцев и увеличиваются у добровольцев с такими патологиями, как СВД и ОШОП. Это позволяет говорить о наличии высокой степени совпадения между ДКИ и ДПВ в норме, которая снижается у добровольцев с сосудистыми патологиями.

Следующий показатель отражает степень вариативности длительности сердечного цикла, зафиксированной с помощью ЭКГ и ФПГ. Отклонение ДКИ и ДПВ от их среднего значения (ОС) вычисляли как корень квадратный из среднего арифметического от суммы квадратов разностей значений ДКИ и ДПВ от их общего среднего. Показатель ОС отражает отклонение ДКИ и ДПВ от их общего среднего арифметического: чем больше значение этого показателя, тем больше отклоняется длительность кардиоинтервалов и пульса от средней длительности сердечного цикла. Показатель ОС у здоровых добровольцев

принимает значение выше среднего, которое у добровольцев с патологиями отличается в сторону значительного снижения или повышения. Следовательно, в норме вариативность — выше среднего, а при патологиях она увеличивается или уменьшается.

Три следующие показателя отражают наличие линейной связи или степень сходства (корреляцию) между ДКИ и ДПВ. Среди них коэффициент наклона (КН) аппроксимирующей прямой зависимости ДКИ от ДПВ, коэффициент смещения (КС) аппроксимирующей прямой зависимости ДКИ от ДПВ и коэффициент достоверности аппроксимации (КДА) зависимости ДКИ от ДПВ. Показатели КН, КС и КДА отражают степень совпадения ДКИ и ДПВ в течение некоторого промежутка времени, в котором осуществляется запись данных. Эти показатели были выявлены в ходе линейной аппроксимации ДКИ и ДПВ, которая осуществлялась методом наименьших квадратов. Линейная зависимость ДКИ и ДПВ описывается средней линией, которая в общем виде может быть представлена уравнением 1:

$$y = ax + b \quad (1),$$

где  $a$  — коэффициент наклона аппроксимирующей прямой;  $b$  — коэффициент смещения или отклонения точек от прямой в системе координат.

В случае высокой степени совпадения ДКИ и ДПВ значения КН и КДА растут, а значение КС — уменьшается.

По результатам экспериментальных исследований [8, 13] было показано, что добровольцы с ОШОП и СВД отличаются от нормы более низкой степенью совпадения ДКИ и ДПВ по показателям линейной связи. Для иллюстрации ниже представлены графики линейных зависимостей ДКИ и ДПВ для добровольцев из разных групп (рис. 2–4).

На рис. 2 представлен график линейной зависимости между ДКИ и ДПВ для типичного добровольца из группы нормы, кото-



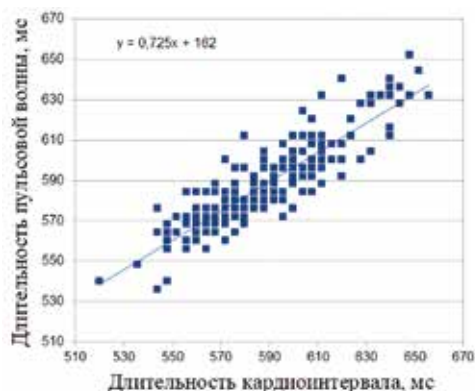
**Рис. 2.** Графическое представление линейной зависимости между длительностью кардиоинтервалов и длительностью пульсовых волн добровольца Б.А. из группы нормы. Показатели совпадения ДКИ и ДПВ:  $KH = 0,985$ ;  $KC = 12$ ;  $КДА = 0,989$ .

**Fig. 2.** Linear relationship between the duration of cardio intervals and the duration of pulse waves in volunteer B.A. from the norm group. Coincidence indicators of DCI and DPW:  $KH$  (slope factor) = 0.985;  $KC$  (bias factor) = 12;  $КДА$  (approximation confidence factor) = 0.989.

рый демонстрирует наибольшую степень совпадения ДКИ и ДПВ. Добровольцы из группы нормы имеют наибольшее значение показателей  $KH$  и  $КДА$  и наименьшее значение  $KC$ . У добровольцев из группы ОШОП и СВД по сравнению с нормой обнаружены меньшие значения показателя  $KH$  и  $КДА$  и большие значения показателей  $KC$ , что указывает на более низкую степень совпадения ДКИ и ДПВ у представителей из групп с исследуемыми патологиями.

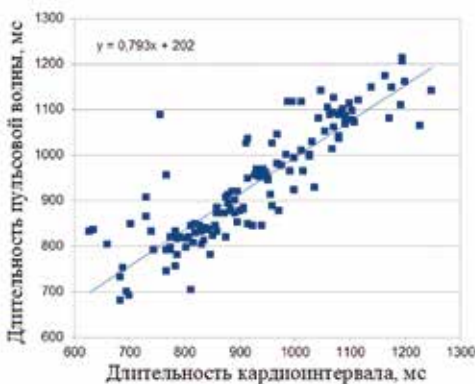
Сравнение линейной зависимости между ДКИ и ДПВ у добровольцев из групп ОШОП (рис. 3) и СВД (рис. 4) позволяет сразу увидеть разницу между ними. Для добровольца из группы ОШОП характерна упорядоченность точек аппроксимирующей прямой, а у добровольца из группы СВД точки расположены более хаотично.

Меньшее совпадение ДКИ и ДПВ в группах с патологиями, связанными с нарушением тонуса и уменьшением просвета сосудов, является маркером неблагоприятного состояния сосудов. Именно сосудистые на-



**Рис. 3.** Графическое представление линейной зависимости между длительностью кардиоинтервалов и длительностью пульсовых волн добровольца Ч.Д. из группы ОШОП. Показатели совпадения ДКИ и ДПВ:  $KH = 0,725$ ;  $KC = 162$ ;  $КДА = 0,758$ .

**Fig. 3.** Linear relationship between the duration of cardio intervals and the duration of pulse waves in volunteer Ch.D. from the group of cervical spine osteochondrosis. Coincidence indicators of DCI and DPW:  $KH$  (slope factor) = 0.725;  $KC$  (bias factor) = 162;  $КДА$  (approximation confidence factor) = 0.758.



**Рис. 4.** Графическое представление линейной зависимости между длительностью кардиоинтервалов и длительностью пульсовых волн добровольца Г.О. из группы СВД. Показатели совпадения ДКИ и ДПВ:  $KH = 0,793$ ;  $KC = 202$ ;  $КДА = 0,773$ .

**Fig. 4.** Linear relationship between the duration of cardio intervals and the duration of pulse waves in volunteer G.O. from the group of autonomic dysfunction syndrome. Coincidence indicators of DCI and DPW:  $KH$  (slope factor) = 0.793;  $KC$  (bias factor) = 202;  $КДА$  (approximation confidence factor) = 0.773.

рушения вносят шумовую составляющую в ДПВ, которая выявляется при сравнении

её с ДКИ. Экспериментально было показано, что эта шумовая составляющая отсутствует в группе нормы (рис. 2) и выявляется в группах с патологиями. Шумовая составляющая отличается в группах с патологиями: для группы с ОШОП характерно упорядоченное расположение точек линейной зависимости ДКИ от ДПВ (рис. 3), а группа СВД отличается более хаотическим расположением точек (рис. 4). Это указывает на то, что шумовая составляющая является маркером патологического процесса, происходящего в сосудах при соответствующей патологии. Изменение состояния сосудов при ОШОП характеризуется механическим сдавливанием сосудистых и нервных элементов, что отражается в виде упорядоченной шумовой составляющей, выявляемой при сопоставлении ДКИ и ДПВ. СВД характеризуется нарушением вегетативной регуляции сосудистого тонуса, проявляющимся в виде спастических явлений, что представлено хаотической шумовой составляющей. Особенности линейной зависимости между ДКИ и ДПВ хорошо различимы графически, и их следует учитывать при дифференциации патологий друг от друга.

Результаты экспериментальных исследований [8, 13] указывают на различия в значениях показателей линейной связи ДКИ и ДПВ между группой нормы и группами добровольцев с сосудистыми патологиями. Добровольцы из группы нормы характеризуются устойчивой линейной связью ДКИ и ДПВ, при которой определяются высокие значения показателей КН и КДА и низкие значения показателя КС. Добровольцы с сосудистыми патологиями характеризуются снижением устойчивости линейной связи по сравнению с нормой: при патологиях значения показателей КН и КДА ниже, а значения показателя КС значительно выше по сравнению с нормой. Следовательно, обнаруживается наличие меньшей степени совпадения ДКИ и ДПВ

в группах добровольцев с ОШОП и СВД по сравнению с нормой, что позволяет считать электрооптический метод пригодным для ранней диагностики нарушений кровоснабжения головного мозга. Однако остаётся нерешённым вопрос о конкретных критериях, позволяющих определить то, к какой группе может быть отнесён новый обследуемый.

### **Дискриминантный анализ показателей степени совпадения длительности сердечного цикла, фиксируемой с помощью методов ЭКГ и ФПГ**

Следующий этап разработки электрооптического метода был посвящён определению критериев принадлежности добровольцев к одной из трёх групп: группы практически здоровых, группы ОШОП и группы СВД. Для этого провели дискриминантный анализ показателей степени совпадения ДКИ и ДПВ по трём заданным группам [14]. В результате дискриминантного анализа были определены показатели совпадения ДКИ и ДПВ, обладающие дискриминантной способностью разделять три заданные группы. Наилучшим образом дискриминация трёх групп осуществлялась с помощью трёх показателей, среди которых мера различия между ДКИ и ДПВ, вариативность ДКИ и ДПВ (ОС) и теснота линейной связи между ДКИ и ДПВ (КДА). Заданные группы характеризуются определёнными паттернами значений трёх дискриминантных показателей совпадения ДКИ и ДПВ, на основе сравнения которых возможно определение принадлежности новых добровольцев к одной из трёх заданных групп: здоровые, ОШОП и СВД.

Сравнение дискриминантных показателей в группах с патологиями и в группе нормы позволило выявить количественные расхождения в их значениях, которые отражают особенности регуляции сердечно-сосудистой системы. Группы с рассмо-

тренными патологиями характеризуются уменьшением тесноты линейной связи между ДКИ и ДПВ по сравнению с нормой, что указывает на наличие общей несогласованности в работе интракардиальных и экстракардиальных регуляторных механизмов.

Мера различия между ДКИ и ДПВ при рассмотренных патологиях увеличивается по сравнению с нормой, что указывает на нарушение механизмов экстракардиальной регуляции, проявляющееся в форме механического или спастического сдавливания сосудов, приводящего к уменьшению просвета сосудов и затруднению кровообращения и в итоге — к недостаточности кровоснабжения органов и тканей.

Изменение вариативности ДКИ и ДПВ при рассмотренных патологиях в сторону значительного уменьшения и значительного увеличения по сравнению с нормой указывает на изменения в соотношении вклада интракардиальных и экстракардиальных механизмов в общую регуляцию. В норме интракардиальная и экстракардиальная регуляция реализуются по принципу взаимодополнения, обеспечивая наилучшее состояние сердечно-сосудистой системы в зависимости от изменяющихся условий. При ОШОП обнаруживается чрезмерная стабильность во взаимодействии интракардиальных и экстракардиальных механизмов, а при СВД наблюдается чрезмерная изменчивость в их взаимодействии. Искажения механизмов регуляции сердечно-сосудистой системы при рассмотренных патологиях обусловлены сопровождающими их характерными изменениями, приводящими к нарушениям мозгового кровообращения.

В результате дискриминантного анализа были выявлены грубые нарушения согласованности в работе центральных механизмов нейровегетативной регуляции сердечно-сосудистой системы, нервно-мышечного автоматизма сердца и его афферентной регуляции при рассмотренных патологиях,

сопровождающихся нарушениями кровоснабжения головного мозга.

Описание результатов, полученных в ходе разработки электрооптического метода, позволило сформулировать следующие выводы:

- электрооптический метод основан на сопоставлении длительности сердечного цикла, зафиксированной по данным ЭКГ и ФПГ, по показателям совпадения которых можно судить о соотношении интракардиальных и экстракардиальных механизмов регуляции;
- экспериментально у здоровых добровольцев была выявлена наибольшая степень совпадения между длительностями сердечного цикла, зафиксированными по данным ЭКГ в стандартном отведении и по данным ФПГ в ушном отведении;
- вариант регистрации длительности сердечного цикла по данным ЭКГ в стандартном отведении и по данным ФПГ в ушном отведении подходит для диагностики начальных проявлений недостаточности кровоснабжения головного мозга, изученных на примере ОШОП и СВД;
- по результатам дискриминантного анализа были выявлены показатели совпадения длительности сердечного цикла, зафиксированной по данным ЭКГ и ФПГ, на основе которых возможна дифференциальная диагностика начальных проявлений недостаточности кровоснабжения головного мозга, изученных на примере ОШОП и СВД;
- мера различия между длительностью сердечного цикла, зафиксированной по данным ЭКГ и ФПГ, является показателем сохранности (в норме) и нарушения (при патологиях) механизмов экстракардиальной регуляции сердечно-сосудистой деятельности;
- теснота линейной связи длительности сердечного цикла, зафиксированной по данным ЭКГ и ФПГ, является показателем наличия (в норме) или отсутствия (при патологиях) общей согласованности в работе

интракардиальных и экстракардиальных регуляторных механизмов;

- вариативность различий между длительностью сердечного цикла, зафиксированной по данным ЭКГ и ФПГ, является показателем сбалансированного (в норме) и несбалансированного (при патологиях) соотношения вкладов интракардиальных и экстракардиальных механизмов в общую регуляцию сердечно-сосудистой системы.

### Заключение

Электрооптический метод предназначен для ранней диагностики нарушений кровоснабжения головного мозга. Этот метод позволяет определить наличие нарушений сосудов на ранней доклинической стадии, при начальных проявлениях недостаточности кровоснабжения головного мозга. С помощью данного метода можно определить наличие сосудистых искажений, отсутствующих в норме. Метод является чувствительным в отношении патологических состояний сосудов, вызванных механическим сдавливанием сосудистого русла, при котором развивается синдром позвоночной артерии при остеохондрозе шейного отдела

позвоночника, и вызванных спазмами сосудов, характерными для синдрома вегетативной дисфункции. Для определения наличия или отсутствия сосудистой патологии и её спецификации используется набор дифференциальных показателей соотношения длительности сердечного цикла, зафиксированной по данным ЭКГ и ФПГ, обладающих способностью разделять три заданные группы. Дифференциальная диагностика начальных проявлений недостаточности кровоснабжения головного мозга осуществляется на основе трёх показателей соответствия между длительностью сердечного цикла, зафиксированной по данным ЭКГ и ФПГ, которые отражают сохранность, согласованность и сбалансированность интракардиальных и экстракардиальных механизмов регуляции сердечно-сосудистой системы. В отличие от нормы, патологии, приводящие к развитию недостаточности кровоснабжения головного мозга, характеризуются нарушениями экстракардиальной регуляции, несогласованностью и несбалансированностью интракардиальных и экстракардиальных регуляторных механизмов сердечно-сосудистой системы.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Антонен Е.Г., Буркин М.М., Хяникяйнен И.В., Кручек М.М. Характеристика начальных проявлений недостаточности мозгового кровообращения на доклинической стадии у лиц трудоспособного возраста. *Профилактическая и клиническая медицина*. 2011;3(40):94–98. [Antonen E.G., Burkin M.M., Hyanikyajnen I.V., Kruchek M.M. Harakteristika nachal'nyh proyavlenij nedostatochnosti mozgovogo krovoobrashcheniya na doklinicheskoy stadii u lic trudospobnogo vozrasta [Characteristics of the initial manifestations of cerebral circulatory insufficiency at the preclinical stage in people of working age]. *Profilakticheskaja i klinicheskaja medicina [Preventive and Clinical Medicine]*. 2011;3(40): 94–98. (In Russian)].
2. Антонен Е.Г., Хяникяйнен И.В. Соматоформная вегетативная дисфункция как предиктор хронической ишемии мозга. *Ученые записки Петрозаводского государственного университета. Медицинские науки*. 2014;4:43–48. [Antonen E.G., Hyanikyajnen I.V. Somatoformnaya vegetativnaya disfunkciya kak prediktor hronicheskoj ishemii mozga [Somatoform autonomic dysfunction as a predictor of chronic cerebral ischemia]. *Uchenye zapiski Petrozavodskogo gosudarstvennogo universiteta. Medicinskie nauki [Proceedings of Petrozavodsk State University. Medical Sciences]*. 2014;4:43–48. (In Russian)].
3. Антонен Е.Г., Хяникяйнен И.В. Электрофизиологическая характеристика доклинической стадии начальных проявлений недостаточности мозгового кровообращения у декретированных лиц в республике Карелия. *Вестник РУДН. Серия Медицина*. 2010;1:112–119. [Antonen E.G., Hyanikyajnen I.V. Elektrofiziologicheskaya harakteristika doklinicheskoy stadii nachal'nyh proyavlenij nedostatochnosti mozgovogo krovoobrashcheniya u dekretirovannyh lic v respublike Kareliya [Electrophysiological characteristics of the preclinical stage of initial manifestations of cerebral circulatory insufficiency in decreed persons in the Republic of Karelia]. *Vestnik RUDN*.



- Seriya Medicina [RUDN Journal of Medicine]*. 2010;1: 112–119. (In Russian).
- Антонов И.П., Гиткина Л.С. *Вертебрально-базиллярные инсульты*. Минск: Беларусь, 1977:240. [Antonov I.P., Gitkina L.S. *Vertebral'no-bazilyarnye insulyty [Vertebrobasilar strokes]*. Minsk: Belarus Publ., 1977:240. (In Russian)].
  - Ацель Е.А., Газизов Р.М. Соматоформная дисфункция вегетативной нервной системы у подростков: особенности диагностики и лечения. *Практическая медицина*. 2008;4(28):65–67. [Atsel E.A., Gazizov R.M. Somatoformnaya disfunkciya vegetativnoj nervnoj sistemy u podrostkov: osobennosti diagnostiki i lecheniya [Somatoform dysfunction of the autonomic nervous system in adolescents: features of diagnosis and treatment]. *Prakticheskaja medicina [Practical Medicine]*. 2008;4(28):65–67. (In Russian)].
  - Бабченко Н.В. Начальные проявления недостаточности кровоснабжения головного мозга: патоморфология, клиника, диагностика, принципы терапии. *Медицинские новости*. 2004;1:17–20. [Babchenko N.V. Nachal'nye proyavleniya nedostatochnosti krovosnabzheniya golovnogo mozga: patomorfologiya, klinika, diagnostika, principy terapii. *Medicinskie novosti [Medical News]*. 2004;1:17–20. (In Russian)].
  - Бокерия Л.А., Бокерия О.Л., Волковская И.В. Вариабельность сердечного ритма: методы измерения, интерпретация, клиническое использование. *Анналы аритмологии*. 2009;4:21–32. [Bokeriya L.A., Bokeriya O.L., Volkovskaya I.V. Variabel'nost' serdechnogo ritma: metody izmereniya, interpretaciya, klinicheskoe ispol'zovanie [Heart rate variability: measurement methods, interpretation, clinical use]. *Annaly aritmologii [Annals of Arrhythmology]*. 2009;4:21–32. (In Russian)].
  - Вартанов А.А., Николаев А.А., Чайванов Д.Б., Чудина Ю.А. Показатели согласованности и рассогласования временных характеристик ЭКГ и ФПГ у лиц с особенностями кровоснабжения головного мозга, обусловленными сужением кровеносных сосудов вследствие потери их эластичности. *Вестник психофизиологии*. 2018;3:91–100. [Vartanov A.A., Nikolaev A.A., Chaivanov D.B., Chudina Yu.A. Pokazateli soglasovannosti i rassoglasovaniya vremennykh harakteristik EKG i FPG u lic s osobennostyami krovosnabzheniya golovnogo mozga, обусловленными сужением кровеносных сосудов вследствие потери их эластичности [Indicators of consistency and mismatch of temporal characteristics of ECG and FPG in persons with peculiarities of blood supply to the brain caused by narrowing of blood vessels due to loss of their elasticity]. *Vestnik psichofiziologii [Psychophysiology News]*. 2018;3:91–100. (In Russian)].
  - Вегетативные расстройства: клиника, лечение, диагностика* / Под ред. А.М. Вейна. М.: Медицинское информационное агентство, 2000:752. [*Vegetativnye rasstrojstva: klinika, lechenie, diagnostika [Vegetative disorders: clinic, treatment, diagnosis]*. Ed. by A.M. Veyn. Moscow: Medicinskoje informacionnoje agentstvo Publ., 2000:752. In Russian].
  - Верещагин Н.П. *Патология вертебрально-базиллярной системы и нарушения мозгового кровообращения*. М.: Медицина, 1980:312. [Vereshchagin N.P. *Patologiya vertebral'no-bazilyarnoj sistemy i narusheniya mozgovogo krovoobrashcheniya [Pathology of the vertebral-basilar system and disorders of cerebral circulation]*. Moscow: Medicina Publ., 1980:312. (In Russian)].
  - Ермолаева А.И., Баранова Г.А., Коврыгин С.И. Особенности диагностики вегетативно-сосудистых расстройств при вертеброгенной патологии. *Вестник новых медицинских технологий*. 2018;1:66–69. [Ermolaeva A.I., Baranova G.A., Kovrygin S.I. Osobennosti diagnostiki vegetativno-sosudistykh rasstrojstv pri vertebrogennoj patologii [Particularities of diagnosis of vegetative-vascular disorders in patients with vertebrogenic pathology]. *Vestnik novyh medicinskih tekhnologij [Journal of New Medical Technologies]*. 2018;1:66–69. (In Russian)]. DOI: 10.24411/2075-4094-2018-15891.
  - Захарова Е.М. Современные представления о цереброваскулярных заболеваниях. *Медицинский альманах*. 2010;2(11):42–47. [Zakharova E.M. Sovremennye predstavleniya o cerebrovaskulyarnyh zabolevaniyah [Modern ideas about cerebrovascular diseases]. *Medicinskij al'manah [Medical Almanac]*. 2010;2(11):42–47. (In Russian)].
  - Каркищенко Н.Н., Николаев А.А., Чудина Ю.А., Чайванов Д.Б., Вартанов А.А. Показатели согласованной работы сердца и сосудов при сосудистой патологии вертеброгенной и невертеброгенной природы. *Биомедицина*. 2020;16(2):47–59. [Karkischenko N.N., Nikolaev A.A., Chudina Yu.A., Chaivanov D.B., Vartanov A.A. Pokazateli soglasovannoj raboty serdca i sosudov pri sosudistoj patologii vertebrogennoj i nevertebrogennoj prirody [Indicators of coordinated work of the heart and blood vessels in vascular pathology of vertebrogenic and non-vertebrogenic nature]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2020;16(2):47–59. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-16-2-47-59.
  - Каркищенко Н.Н., Чайванов Д.Б., Чудина Ю.А., Вартанов А.А., Николаев А.А. Дискриминантный анализ показателей согласованной работы сердца и сосудов в норме и при патологиях сосудов. *Биомедицина*. 2021;17(2):8–21. [Karkischenko N.N., Chaivanov D.B., Chudina Yu.A., Vartanov A.A., Nikolaev A.A. Diskriminantnyj analiz pokazatelej soglasovannoj raboty serdca i sosudov v norme i pri patologiyah sosudov [Discriminant analysis of indicators of coordinated work of the heart and blood vessels in normal and vascular pathologies]. *Biomedicina*

- [*Journal Biomed.*]. 2021;17(2):8–21. (In Russian). DOI: 10.33647/2074-5982-17-2-8-21.
15. Мамонова Е.Ю. Клинико-гемодинамические нарушения у подростков с вертеброгенным синдромом позвоночной артерии. *Хирургия позвоночника*. 2006;3: 68–70. [Mamonova E.Yu. Kliniko-gemodinamicheskie narusheniya u podrostkov s vertebrogennym sindromom pozvonochnoj arterii [Clinical and hemodynamic disorders in adolescents with vertebrogenic vertebral artery syndrome.]. *Hirurgiya pozvonochnika [Spine Surgery]*. 2006;3:68–70. (In Russian)].
  16. Мамонова Е.Ю., Калинина М.Ю. Гемодинамические нарушения при шейном остеохондрозе у нефтяников Западной Сибири. *Сибирский медицинский журнал*. 2008;2(3):69–72. [Mamonova E.Yu., Kalinina M.Yu. Gemodinamicheskie narusheniya pri shejnom osteohondroze u neftyanikov Zapadnoj Sibiri [Hemodynamic disorders in cervical osteochondrosis in oilmen of Western Siberia]. *Sibirskij medicinskij zhurnal [Siberian Medical Journal]*. 2008;2(3):69–72. (In Russian)].
  17. Мошкевич В.С. *Фотоплетизмография*. М.: Медицина, 1970:154. [Moshkevich V.S. *Photoplethysmography*. Moscow: Medicina Publ., 1970:154. (In Russian)].
  18. Мугерман Б.И., Багманова Р.Г. Механизмы нарушения вертебробазилярного кровообращения у лиц среднего возраста, страдающих остеохондрозом. *Педагогико-психологические и медико-биологические проблемы физической культуры и спорта*. 2007;3(2):80–85. [Mugerman B.I., Bagmanova R.G. Mekhanizmy narusheniya vertebrobazilyarnogo krovoobrashcheniya u lic srednego vozrasta, stradayushchih osteohondrozom [Mechanisms of violation of vertebrobasilar circulation in middle-aged people suffering from osteochondrosis]. *Pedagogiko-psihologicheskie i mediko-biologicheskie problemy fizicheskoy kul'tury i sporta [Russian Journal of Physical Education and Sport]*. 2007;3(2):80–85. (In Russian)].
  19. Стригина М.И., Чайванов Д.Б., Чудина Ю.А. Исследования погрешностей данных фотоплетизмограммы для анализа вариабельности сердечного ритма. *Биомедицина*. 2013;4:139–148. [Strigina M.I., Chaivanov D.B., Chudina Yu.A. Issledovaniya pogreshnostej dannyh fotopletizmogrammy dlya analiza variabel'nosti serdechnogo ritma [Studies of errors in photoplethysmogram data for the analysis of heart rate variability]. *Biomedicina [Journal Biomed.]*. 2013;4:139–148. (In Russian)].
  20. Усанов Д.А., Скрипаль А.В., Вагарин А.Ю., Рытик А.П. *Методы и аппаратура для диагностики состояния сердечно-сосудистой системы по характеристикам пульсовой волны*. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2009:96. [Usanov D.A., Skripal' A.V., Vagarin A.Yu., Rytik A.P. *Metody i apparatura dlya diagnostiki sostoyaniya serdechnososudistoj sistemy po harakteristikam pul'sovoj volny [Methods and equipment for diagnosing the state of the cardiovascular system by pulse wave characteristics]*. Saratov: Saratov University Publ., 2009:96. (In Russian)].
  21. Черноротов В.А. Экспертно-реабилитационная диагностика больных с вертебробазилярной недостаточностью при остеохондрозе шейного отдела позвоночника. *Вестник физиотерапии и курортологии*. 2014:51–56. [Chernorotov V.A. Ekspertno-reabilitacionnaya diagnostika bol'nyh s vertebrobazilyarnoj nedostatochnost'yu pri osteohondroze shejnogo otdela pozvonochnika [Expert rehabilitation diagnostics of patients with vertebrobasilar insufficiency in osteochondrosis of the cervical spine]. *Vestnik fizioterapii i kurortologii [Bulletin of Physiotherapy and Balneology]*. 2014:51–56. (In Russian)].
  22. Чутко Л.С. Соматоформные расстройства. *Медицинский совет*. 2011;1-2:84–87. [Chutko L.S. Somatoformnye rasstrojstva [Somatoform disorders]. *Medicinskij совет [Medical Council]*. 2011;1-2:84–87. (In Russian)].
  23. Шурыгин И.А. *Мониторинг дыхания: пульсоксиметрия, капнография, оксиметрия*. СПб.: Невский Диалект; М.: Изд-во БИНОМ, 2000:301. [Shurygin I.A. *Monitoring dyhaniya: pul'soksimetriya, kapnografiya, oksimetriya [Respiratory monitoring: pulse oximetry, capnography, oximetry]*. St. Petersburg: Nevskij Dialekt Publ.; Moscow: BINOM Publ., 2000:301. (In Russian)].
  24. Provenzale J.M., Barboriak D.P. Brain infarction in young adults: etiology and imaging findings. *Am. J. Roentgenol.* 1997;169(4):1161–1168.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Ковальчук Михаил Валентинович**, д.ф.-м.н., проф., чл.-корр. РАН, ФГБУН Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;  
e-mail: [Kovalchuk\\_MV@nrcki.ru](mailto:Kovalchuk_MV@nrcki.ru)

**Mikhail V. Kovalchuk**, Dr. Sci. (Phys.-Math.), Prof., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, National Research Center “Kurchatov Institute”;  
e-mail: [Kovalchuk\\_MV@nrcki.ru](mailto:Kovalchuk_MV@nrcki.ru)

**Каркищенко Николай Николаевич**, д.м.н., проф., академик РАН, чл.-корр. РАН, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

**e-mail:** [niknik2808@yandex.ru](mailto:niknik2808@yandex.ru)

**Чайванов Дмитрий Борисович\***, к.ф.-м.н., ФГБУН Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;

**e-mail:** [Chayvanov\\_DB@nrcki.ru](mailto:Chayvanov_DB@nrcki.ru)

**Чудина Юлия Александровна**, ФГБУН Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;

**e-mail:** [Chudina\\_YA@nrcki.ru](mailto:Chudina_YA@nrcki.ru)

**Николаев Андрей Андреевич**, ФГБУН Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;

**e-mail:** [Nikolaev-AA@nrcki.ru](mailto:Nikolaev-AA@nrcki.ru)

**Вартанов Александр Александрович**, ФГБУН Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;

**e-mail:** [Vartanov\\_AA@nrcki.ru](mailto:Vartanov_AA@nrcki.ru)

**Nikolay N. Karkischenko**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of the Russian Academy of Rocket and Artillery Sciences, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

**e-mail:** [niknik2808@yandex.ru](mailto:niknik2808@yandex.ru)

**Dmitry B. Chaivanov\***, Cand. Sci. (Phys.-Math.), National Research Center “Kurchatov Institute”;

**e-mail:** [Chayvanov\\_DB@nrcki.ru](mailto:Chayvanov_DB@nrcki.ru)

**Yulia A. Chudina**, Cand. Sci. (Psych.), National Research Center “Kurchatov Institute”;

**e-mail:** [Chudina\\_YA@nrcki.ru](mailto:Chudina_YA@nrcki.ru)

**Andrey A. Nikolaev**, National Research Center “Kurchatov Institute”;

**e-mail:** [Nikolaev-AA@nrcki.ru](mailto:Nikolaev-AA@nrcki.ru)

**Alexander A. Vartanov**, National Research Center “Kurchatov Institute”;

**e-mail:** [Vartanov\\_AA@nrcki.ru](mailto:Vartanov_AA@nrcki.ru)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



## ИСТОЩАЮЩАЯ ФИЗИЧЕСКАЯ НАГРУЗКА ВЫЗЫВАЕТ МНОГОКРАТНОЕ ПОВЫШЕНИЕ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНА *HMGB1* В ЛИМФОЦИТАХ МИНИ-ПИГОВ

**В.Н. Каркищенко, И.А. Помыткин, Н.В. Петрова\*, Н.В. Станкова, О.В. Алимкина,  
Ю.В. Фокин, А.М. Зубалий, Н.А. Ларюшина, И.А. Васильева**

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

Впервые показано, что истощающая физическая нагрузка вызывает кратковременное многократное повышение транскрипции гена *HMGB1* в клетках лейкоцитарной фракции крови (лимфоцитах) мини-пигов и статистически значимое повышение уровня лейкоцитов при неизменности других морфологических параметров крови за счёт увеличения числа нейтрофилов в постнагрузочном периоде (до 6 ч включительно). Нейтрофилы могут рассматриваться в качестве маркера для изучения влияния предельной физической нагрузки на процессы, связанные с восстановлением, и как потенциальный повреждающий фактор. Лимфоциты, предположительно, являются источником *HMGB1* при кратковременной истощающей физической нагрузке, а выявленное повышение транскрипции гена *HMGB1* носит компенсаторный характер и направлено на восстановление пула лимфоцитарного белка *HMGB1* в постнагрузочном периоде. *HMGB1* лейкоцитов может играть роль повреждающего фактора или фактора регенерации в зависимости от вида и продолжительности физической нагрузки, учитывая его особую роль в ускорении формирования новых мышечных волокон, увеличении их размера и васкуляризации мышечной ткани.

**Ключевые слова:** *HMGB1*, ген, белок, лейкоциты, лимфоциты, нейтрофилы, физическая нагрузка, истощение, восстановление, мини-пиги

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Каркищенко В.Н., Помыткин И.А., Петрова Н.В., Станкова Н.В., Алимкина О.В., Фокин Ю.В., Зубалий А.М., Ларюшина Н.А., Васильева И.А. Истощающая физическая нагрузка вызывает многократное повышение транскрипции гена *HMGB1* в лимфоцитах мини-пигов. *Биомедицина*. 2022;18(1):22–31. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-1-22-31>

Поступила 11.10.2021

Принята после доработки 03.02.2022

Опубликована 10.03.2022

## EXHAUSTING PHYSICAL EXERCISE CAUSES A MULTIPLE INCREASE IN THE TRANSCRIPTION OF *HMGB1* GENE IN MINI PIGS' LYMPHOCYTES

**Vladislav N. Karkischenko, Igor A. Pomytkin, Nataliya V. Petrova\*, Nataliia V. Stankova,  
Oksana V. Alimkina, Yuriy V. Fokin, Anastasiya M. Zubaliy,  
Nadezhda A. Laryushina, Irina A. Vasil'eva**

*Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia  
143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1*

It is shown for the first time that debilitating physical activity causes a short-term multiple increase in the transcription of the *HMGB1* gene in the cells of the leukocyte blood fraction (lymphocytes) of mini pigs and a statistically significant increase in the level of leukocytes. At the same time, other morphological

parameters of the blood remain unchanged due to an increase in the number of neutrophils in the post-exercise period (up to 6 hours inclusive). Neutrophils can be considered both as a marker for investigating the effect of limiting physical activity on the processes associated with recovery and as a potential damaging factor. Lymphocytes are presumably the source of HMGB1 during short-term debilitating physical activity. The revealed increase in *HMGB1* gene transcription is of a compensatory nature and is aimed at restoring the HMGB1 lymphocytic protein pool in the post-exercise period. Leukocyte HMGB1 can play the role of a damaging factor or a regeneration factor depending on the type and duration of physical activity, given its specific role in accelerating the formation of new muscle fibers, increasing their size and vascularization of muscle tissue.

**Keywords:** gene, protein, leukocytes, lymphocytes, neutrophils, exercise, exhaustion, recovery, mini pigs

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

**For citation:** Karkischenko V.N., Pomytkin I.A., Petrova N.V., Stankova N.V., Alimkina O.V., Fokin Yu.V., Zubaliy A.M., Laryushina N.A., Vasil'eva I.A. Exhausting Physical Exercise Causes a Multiple Increase in the Transcription of HMGB1 Gene in Mini Pigs' Lymphocytes. *Journal Biomed.* 2022;18(1):22–31. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-1-22-31>

Submitted 11.10.2021

Revised 03.02.2022

Published 10.03.2022

## Введение

Блок бокс 1 группы высокой подвижности (HMGB1, high mobility group box 1) представляет собой консервативную последовательность из 215-ти аминокислот, 40 из которых составляют остатки лизина. Поэтому при физиологических условиях HMGB1 является поликатионом, способным образовывать комплексы с нуклеиновыми кислотами. HMGB1 преимущественно локализован в ядре, где он действует как шаперон ДНК и участвует в регуляции ключевых событий, таких как образование комплексов с ДНК, изгибание ДНК, стабилизация нуклеосом, репликация ДНК, восстановление повреждённой ДНК и транскрипция генов. Однако в результате пост-трансляционных модификаций HMGB1, таких как ацетилирование, фосфорилирование и метилирование, ядерный HMGB1 может переходить в цитоплазму и далее во внеклеточное пространство, где он проявляет свойства цитокина, обладая способностью связываться с рецептором конечных продуктов гликирования (RAGE), толл-подобным рецептором 4 (TLR4), а также ещё с десятком других рецепторов в со-

ставе комплексов с третьими партнёрами. В целом биологические функции HMGB1 разнообразны и зависят от множества факторов, включая природу пост-трансляционных модификаций, окислительно-восстановительное состояние, клеточную или внеклеточную локализацию, а также кооперацию с другими молекулами [13].

Интерес к внеклеточному HMGB1 в медицине обусловлен тем, что окисленная модификация HMGB1 (дисульфид) играет роль ключевого провоспалительного фактора, который активирует TLR4 и утяжеляет течение ряда заболеваний, включая инфекционные заболевания, аутоиммунные заболевания, заболевания лёгких и сердечно-сосудистой системы, а также альтерации, вызванные травмой, инсультом или ишемией-реперфузией [13, 18].

В то же время внеклеточный HMGB1 в восстановленном состоянии (дитиол) участвует в процессах регенерации тканей, в частности скелетной мускулатуры и костей скелета. Воздействуя на рецептор RAGE на поверхности миобластов, HMGB1 усиливает и поддерживает дифференцировку миобластов и формирование мышечных

трубок как на стадии развития мускулатуры, так и при восстановлении мышечных альтераций [8, 9, 15, 16]. В составе комплекса с CXCL12 выделяющийся при травме и переломах HMGB1 дитиол ускоряет регенерацию мышц, скелета, печени и др. тканей, опосредованную CXCR4-рецептором [14, 17]. Тромбоцитарный HMGB1 ускоряет регенерацию повреждённых сухожилий [20]. Особую роль в процессах регенерации мышц играет HMGB1 лейкоцитов, который необходим для ускорения формирования новых мышечных волокон, увеличения их размера, а также разрастания (sprouting) сосудов в мышечной ткани, как было показано в экспериментах на линии мышей, нокаутных по лейкоцитарному HMGB1 [7].

В ряде исследований было показано, что интенсивные физические упражнения могут сопровождаться повышением концентрации внеклеточного HMGB1 в крови, и этот процесс зависит от типа нагрузки [4, 5, 21]. В «пионерской» работе о связи HMGB1 и физических упражнений уровень HMGB1 в плазме спортсменов (n=9) сохранялся близким к норме при умеренной нагрузке на беговой дорожке, но быстро (в течение нескольких минут) повышался в среднем более чем в три раза при получении кратковременной истощающей физической нагрузки и также быстро возвращался к норме после снятия нагрузки [4]. Уровень HMGB1 в крови непрофессиональных бегунов на марафонскую (n=34) и полумарафонскую (n=36) дистанции повышался в 1,5 и 2,3 раза соответственно сразу после забега и возвращался к исходным значениям через 2–7 дней после окончания забега [5]. В противовес этим результатам средний уровень HMGB1 в плазме не менялся у спортсменов, участвовавших в длительной велосипедной гонке (Париж–Брест–Париж, 1200 км; n=11), или у спортсменов, выполнявших 100 падений до вертикального прыжка (DVJ; n=10), при том, что у этих спортсменов наблюдались статистиче-

ски значимые изменения уровней креатинкиназы. Это противоречие, по мнению самих авторов исследования [3], могло быть следствием технической ошибки измерений HMGB1 в крови [3, 12].

Низкоинтенсивная регулярная физическая нагрузка, напротив, может снижать хронически повышенные уровни HMGB1 в крови в периоде после острого инфаркта миокарда [10] и при некоторых заболеваниях, таких как рак молочной железы [11].

О функциях HMGB1, выделяющегося в результате физической нагрузки, известно мало, причём рассматривается только его повреждающее действие. Как было показано в исследовании на линии мышей C57Bl/6, выделение HMGB1 в матрикс сухожилия после интенсивной физической нагрузки на беговой дорожке может опосредовать развитие тендинопатии, воспалительного заболевания сухожилий [21]. Механизм повреждающего действия внеклеточного HMGB1 связан с дозозависимой активацией воспалительной реакции в клетках и тканях сухожилий, что наблюдалось при введении экзогенного HMGB1 без физической нагрузки или в сочетании с физической нагрузкой на беговой дорожке [19].

Об источниках внеклеточного HMGB1, выделяющегося при истощающей физической нагрузке, практически ничего неизвестно. Есть только не подтверждённое пока предположение, что такими источниками могут служить работающие клетки скелетной мускулатуры (миоциты), а также иммунные клетки, взаимодействующие с работающей мышцей [12]. Хотя известен сам факт повышения уровней белка HMGB1 в крови при физических нагрузках, в литературе не имеется каких-либо данных о влиянии этих нагрузок на транскрипцию гена HMGB1 в органах и тканях, в т. ч. в лейкоцитах, которые играют особую роль в формировании мышечного волокна, а также прорастание сосудов в скелетную мышцу и адаптацию к гипоксии [7].



**Целью** работы было изучение изменений клеточного состава крови во времени, а также экспрессии гена *HMGB1* в лимфоцитах крови мини-пигов под влиянием предельных истошающих физических нагрузок («работа до отказа»).

## Материалы и методы

### *Животные*

Использованы мини-пиги светлогорской популяции, самцы в возрасте 4–6 мес. со средней массой тела  $15,6 \pm 0,9$  кг ( $n=8$ ), выведенные в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская обл., Красногорский р-н). Животные содержались в одном помещении, в групповых станках по 4 особи, с оптимальными параметрами микроклимата и освещения для содержания крупных лабораторных животных. Использовался стандартный тип кормления — полнорационный комбикорм СК-8 (норма — 320 г/сут на голову), поение без ограничений. В день проведения теста животных не кормили, доступ к воде не ограничивали. Исследования проводились в соответствии с Приказом Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики», а также Директивой ЕС 2010/63/ЕС о защите животных, используемых в научных целях. Все эксперименты одобрены биоэтической комиссией ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

### *Тест бега мини-пигов на treadбане до отказа*

Тест производился с использованием беговой дорожки для животных типа Pet Treadmill wikiRUN № 3 с защитной сеткой (Россия), адаптированной для мини-пигов. Тест до отказа подразумевает под собой интенсивность нагрузки 95–100% от максимальной. Этот показатель был рассчитан на основе определения физической работоспособности мини-пигов [1]. Животные в группе имели одинаковый уровень работоспособности — 4,05 км/ч. Таким образом, скорость движения беговой дорожки во время тестирования до отказа для всех

животных в группе составила 5,13 км/ч. Регистрируемый показатель — время бега [2]. Тестирование проводили утром в специальном проветриваемом помещении при температуре 20°C.

### *Анализ крови*

Забор венозной крови для гематологии и анализа ПЦР проводился из краниальной поллой вены. Общий анализ крови проводился на автоматическом гематологическом анализаторе Mindray BC-3600.

### *Выделение лимфоцитов*

Фракцию лимфоцитов выделяли из полученных образцов крови центрифугированием с использованием фиколл-урографина (плотность — 1,077 г/мл) [6].

### *Выделение РНК*

Для выделения тотальной РНК из биоматериала (лимфоцитов) были использованы наборы «РНК-Экстрэн» («Синтол», Россия) в соответствии с инструкциями фирмы-производителя. Для получения комплементарной ДНК (кДНК) были использованы наборы «Реверта-Л» («АмплиСенс», Россия). Для определения морфологических параметров крови изготавливались мазки на предметном стекле, окрашивание осуществлялось с помощью краски Leukodif 200 («Erba Lachema», Чехия), микроскопирование производилось на микроскопе МТ4300L («Meiji Techno», Япония).

### *ПЦР в реальном времени*

Анализ ПЦР производили на матрице ДНК, полученной в результате обратной транскрипции одноцепочечной РНК в кДНК. Синтез первой цепи кДНК проводили согласно инструкции «Комплект реагентов для получения кДНК на матрице РНК «РЕВЕРТА-Л» при 37°C — 30 мин в течение одного цикла. Исследование экспрессии гена *HMGB1* в исследуемых пробах производилось с помощью детектирующего амплификатора CFX-96 («BioRad», США) с использованием специфических праймеров и флуоресцентных зондов, указанных в табл. 1. В качестве референсного

гена был выбран ген «домашнего хозяйства» *GAPDH*. Результаты представлены как среднее  $\pm$  ошибка среднего транскрип-

ции гена *HMGB1* в указанный момент времени до и после нагрузки относительно транскрипции этого же гена до нагрузки.

**Таблица 1.** Олигонуклеотидные праймеры и зонды ПЦР-системы для детекции гена *HMGB1*  
**Table 1.** Oligonucleotide primers and PCR probes used for detecting *HMGB1* gene

Праймер/зонд	Олигонуклеотидная последовательность
<i>HMGB1</i> sus F	TGAAGAGGATGAGGAGGAGG
<i>HMGB1</i> sus R	CCACCAGGACAGGGCTATCT
<i>HMGB1</i> sus	ROX-AGGATGAGGAGGAAGAAGAAGATGA-BHQ <sub>2</sub>

### Статистическая обработка

Данные представлены как среднее  $\pm$  ошибка среднего. Нормальность распределения оценивали с использованием критерия Колмогорова—Смирнова. Статистическую значимость определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа с повторными измерениями (one-way RM ANOVA) с последующим тестом Даннетта (Dunnett's test) или критерия Фридмана (Friedman) с последующим тестом Даннетта для множественного сравнения различий между группами. Силу линейной взаимосвязи между переменными оценивали с использованием линейного коэффициента корреляции Пирсона (Pearson's r). Различия между группами считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Данные анализировали с использованием программного обеспечения Prism («GraphPad», США).

### Результаты исследований

Индивидуальные показатели физической нагрузки для каждой особи ( $n=8$ ) представлены в табл. 2.

Из данных табл. 2 видно, что одно животное не справилось с заданной нагрузкой, скорость пришлось снизить и тест остановить. Результат учитывался по полученным данным.

Физическая нагрузка привела к статистически значимым изменениям общего уровня лейкоцитов в крови в постнагрузочном периоде (табл. 3; рис. 1А). Кроме того, наблюдалось кратковременное статистически значимое повышение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) на 60-й мин постнагрузочного периода (табл. 3).

Анализ лейкоцитарной фракции показал, что физическая нагрузка по-разному влияет на нейтрофилы и лимфоциты, со-

**Таблица 2.** Индивидуальные показатели физической нагрузки  
**Table 2.** Individual indicators of physical activity

№ животного	Масса тела, кг	Показатели бега	
		Скорость, км/ч	Продолжительность, мин
1	16,99	3	7
2	17,25	5,13	10
3	18,20	5,13	24
4	18,59	5,13	27
5	12,30	5,13	26
6	13,09	5,13	26
7	14,30	5,13	25
8	14,00	5,13	10

**Таблица 3.** Клеточный состав крови до и после физической нагрузки  
**Table 3.** Cellular blood composition before and after exercise

Параметры	До нагрузки	После нагрузки			
		0 мин	30 мин	60 мин	360 мин
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	11,8±1,1	13,5±1,3	17,1±1,1****	18,3±0,9****	16,8±0,9****
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	477,0±16,7	471,6±24,3	473,3±21,3	482,3±23,3	373,9±17,4
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	7,9±0,3	7,7±0,2	7,5±0,2	7,6±0,2	7,5±0,2
Гемоглобин, г/л	142,6±5,0	138,6±4,3	135,9±5,1	138,5±3,7	137,4±3,9
Гематокрит, %	42,5±1,7	40,5±1,4	39,4±1,5	40,4±1,3	40,3±1,2
СОЭ	1,6±0,4	2,6±1,4	2,0±0,7	7,5±2,4*	3,1±0,6

**Примечание:** \* — статистически значимое отличие от значений до нагрузки при  $p < 0,05$ ;

\*\*\*\* — статистически значимое отличие от значений до нагрузки при  $p < 0,0001$ .

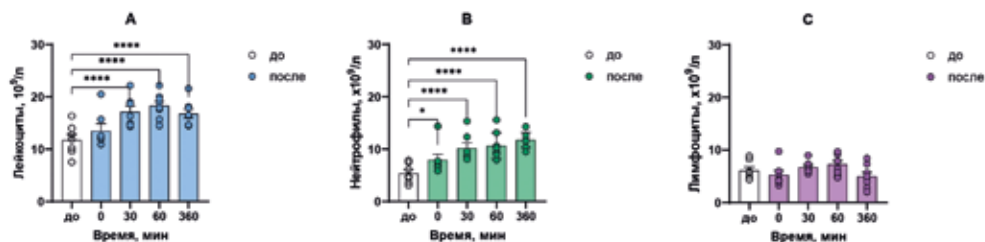
**Note:** \* — statistically significant difference from the values before exercise at  $p < 0,05$ ;

\*\*\*\* — statistically significant difference from the values before exercise at  $p < 0,0001$ .

ставляющие в сумме 97–99% от общего числа клеток фракции. Однофакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями (one-way RM ANOVA) выявил статистически значимые изменения содержания нейтрофилов (рис. 1В;  $F_{4,28}=19,52$ ;  $p < 0,0001$ ) в крови в период до и после физической нагрузки, причём post-hoc тест Даннетта показал статистически значимое повышение числа нейтрофилов в 1,5 ( $p < 0,05$ ); 1,9 ( $p < 0,0001$ ); 2,0 ( $p < 0,0001$ ) и 2,2 ( $p < 0,0001$ ) раза по сравнению с исходными значениями на 0-й, 30-й, 60-й и 360-й мин постнагрузочного периода соответственно. Однофакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями (one-way RM ANOVA) с последующим тестом Даннетта

не выявил статистически значимых изменений содержания лимфоцитов в постнагрузочном периоде ( $p > 0,05$ ) по сравнению с исходными значениями до нагрузки.

Предельная физическая нагрузка привела к статистически значимому изменению транскрипции гена *HMGB1* в лимфоцитах крови животных (рис. 2;  $p < 0,001$ ; критерий Фридмана), причём тест Даннетта выявил статистически значимое повышение транскрипции гена *HMGB1* в 17,8 ( $p < 0,001$ ) и 51,1 ( $p < 0,05$ ) раза на 0-й и 30-й мин постнагрузочного периода соответственно по сравнению с исходными значениями. Этот эффект нагрузки на динамику транскрипции гена был непродолжительным, и уже через 1 ч после завершения бега

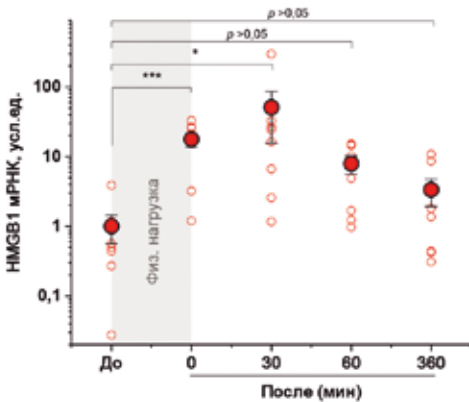


**Рис. 1.** Состав лейкоцитарной фракции крови до и после предельной физической нагрузки.

**Примечание:** \* —  $p < 0,05$  по сравнению с исходными значениями до нагрузки; \*\*\*\* —  $p < 0,0001$  по сравнению с исходными значениями до нагрузки.

**Fig. 1.** Composition of the leukocyte blood fraction before and after extreme physical activity.

**Note:** \* —  $p < 0,05$  compared with the initial values before exercise; \*\*\*\* —  $p < 0,0001$  compared with the initial values before exercise.



**Рис. 2.** Уровни *HMGB1* мРНК в лимфоцитах светлогорских мини-свиней до и после субмаксимальной физической нагрузки в тесте *PWC170*.

**Примечание:** (○) — индивидуальные значения; (●) — среднее ± ошибка среднего ( $n=8$ ) в указанных временных точках; \* —  $p<0,05$  по сравнению с исходными значениями до нагрузки; \*\*\* —  $p<0,001$  по сравнению с исходными значениями до нагрузки.

**Fig. 2.** *HMGB1* mRNA levels in the lymphocytes of Svetlogorsk mini pigs before and after submaximal exercise in the *PWC170* test.

**Note:** (○) — individual values; (●) — mean ± mean error ( $n=8$ ) at the specified time points; \* —  $p<0.05$  compared with the initial values before exercise; \*\*\* —  $p<0.001$  compared with the initial values before exercise.

уровни *HMGB1* мРНК в лимфоцитах снижались до значений, статистически не отличимых от наблюдаемых до физической нагрузки ( $p>0,05$ ).

Анализ с использованием критерия Пирсона не выявил наличия статистически значимой линейной корреляции (связи) между изменениями в транскрипции гена *HMGB1* в лимфоцитах и изменениями в общем уровне лимфоцитов ( $p>0,05$ ) в период до и после субмаксимальной физической нагрузки.

## Обсуждение результатов

Предельная физическая нагрузка привела к статистически значимому повышению уровня лейкоцитов при неизменности других морфологических параметров крови. Изменения в лейкоцитарной фракции прои-

зошли практически исключительно за счёт увеличения числа нейтрофилов в постнагрузочном периоде (от 0 до 6 ч включительно). Таким образом, нейтрофилы представляют собой наиболее интересный объект для изучения влияния предельной физической нагрузки на процессы, связанные с восстановлением, и в качестве потенциального повреждающего фактора.

Нами впервые показано, что истощающая физическая нагрузка приводит к многократному повышению транскрипции гена *HMGB1* в лимфоцитах в постнагрузочном периоде. Это повышение транскрипции совпадает по времени с самой нагрузкой и быстро затухает, снижаясь до уровней, статистически не отличимых от исходных значений уже через 1 ч после окончания нагрузки. Выявленный нами профиль транскрипции *HMGB1* близок к опубликованному ранее временному профилю выделения белка *HMGB1* при физических нагрузках у атлетов [4].

Можно предположить, что лимфоциты являются источником *HMGB1* при кратковременной истощающей физической нагрузке, а выявленное нами повышение транскрипции гена *HMGB1* носит компенсаторный характер и направлено на восстановление пула лимфоцитарного белка *HMGB1* в постнагрузочном периоде. Эта гипотеза, однако, нуждается в экспериментальной проверке. Предстоит также выяснить, какую функцию — повреждающую или, напротив, регенераторную — выполняет *HMGB1* лимфоцитов при разных видах физической нагрузки, учитывая известную особую роль лейкоцитарного *HMGB1* в ускорении формирования новых мышечных волокон, увеличении их размера и васкуляризации мышечной ткани [20].

## Заключение

В настоящей работе впервые показано, что истощающая физическая нагрузка

вызывает кратковременное многократное повышение транскрипции гена *HMGB1* в клетках лейкоцитарной фракции крови. Опираясь на известные данные о влиянии лейкоцитарного *HMGB1* на формирование мышечных волокон и прорастание сосудов в скелетную мышцу, мы полагаем,

что результаты, полученные в настоящем исследовании, могут быть основанием для экспериментальной проверки гипотезы, что *HMGB1* лейкоцитов может играть роль повреждающего фактора или фактора регенерации в зависимости от вида и продолжительности физической нагрузки.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Станкова Н.В., Савина М.А. Непрямой субмаксимальный нагрузочный тест PWC170 определения физической работоспособности на светлогорских мини-свиньях. *Биомедицина*. 2021;17(3E):89–94. [Stankova N.V., Savina M.A. Nepriamoj submaksimal'nyj nagruzochnyj test PWC170 opredeleniya fizicheskoj rabotosposobnosti na svetlogorskix mini-svin'jax [Indirect submaximal load test PWC170 for determining physical performance on Svetlogorsk mini pigs. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2021;17(3E):89–94. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2713-0428-17-3E-89-94.
2. Шустов Е.Б., Фокин Ю.В., Капаназде Г.Д., Берзин И.А., Станкова Н.В., Алимкина О.В., Матвеевко Е.Л., Петрова Н.В. Сезонная динамика показателей физической работоспособности лабораторных животных. *Биомедицина*. 2016;1:66–73. [Shustov E.B., Fokin Yu.V., Kapanadze G.D., Berzin I.A., Stankova N.V., Alimkina O.V., Matveyenko E.L., Petrova N.V. Sezonnaya dinamika pokazatelej fizicheskoj rabotosposobnosti laboratornyx zhivotnyx [Seasonal dynamics of indicators of physical performance of laboratory animals]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2016;1:66–73. (In Russian)].
3. Behringer M., Kilian Y., Montag J., Geesmann B., Mester J. Plasma concentration of high-mobility group box 1 (*HMGB1*) after 100 drop to vertical jumps and after a 1200-km bicycle race. *Res. Sports Med.* 2016;24(2):119–129. DOI: 10.1080/15438627.2015.1126275.
4. Beiter T., Fragasso A., Hudemann J., Niess A.M., Simon P. Short-term treadmill running as a model for studying cell-free DNA kinetics *in vivo*. *Clin. Chem.* 2011;57(4):633–636. DOI: 10.1373/clinchem.2010.158030.
5. Bekos C., Zimmermann M., Unger L., Janik S., Hacker P., Mitterbauer A., Koller M., Fritz R., Gäbler C., Kessler M., Nickl S., Didcock J., Altmann P., Haider T., Roth G., Klepetko W., Ankersmit H.J., Moser B. Non-professional marathon running: RAGE axis and ST2 family changes in relation to open-window effect, inflammation and renal function. *Sci. Rep.* 2016;6:32315. DOI: 10.1038/srep32315.
6. Boyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand. J. Clin. Lab. Investig.* 1968;21(Suppl 97):1–9.
7. Campana L., Santarella F., Esposito A., Maugeri N., Rigamonti E., Monno A., Canu T., Del Maschio A., Bianchi M.E., Manfredi A.A., Rovere-Querini P. Leukocyte *HMGB1* is required for vessel remodeling in regenerating muscles. *J. Immunol.* 2014;192(11):5257–5264. DOI: 10.4049/jimmunol.1300938.
8. De Mori R., Straino S., Di Carlo A., Mangoni A., Pompilio G., Palumbo R., Bianchi M.E., Capogrossi M.C., Germani A. Multiple effects of high mobility group box protein 1 in skeletal muscle regeneration. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007;27(11):2377–2383. DOI: 10.1161/ATVBAHA.107.153429.
9. Dormoy-Raclet V., Cammas A., Celona B., Lian X.J., van der Giessen K., Zivojnovic M., Brunelli S., Riuzzi F., Sorci G., Wilhelm B.T., Di Marco S., Donato R., Bianchi M.E., Gallouzi I.E. HuR and miR-1192 regulate myogenesis by modulating the translation of *HMGB1* mRNA. *Nat. Commun.* 2013;4:2388. DOI: 10.1038/ncomms3388.
10. Giallauria F., Cirillo P., D'agostino M., Petrillo G., Vitelli A., Pacileo M., Angri V., Chiariello M., Vigorito C. Effects of exercise training on high-mobility group box-1 levels after acute myocardial infarction. *J. Card. Fail.* 2011;17(2):108–114. DOI: 10.1016/j.cardfail.2010.09.001.
11. Giallauria F., Gentile M., Chiodini P., Berrino F., Mattiello A., Maresca L., Vitelli A., Mancini M., Grieco A., Lucci R., Torella G., Panico S., Vigorito C. Exercise training reduces high mobility group box-1 protein levels in women with breast cancer: findings from the DIANA-5 study. *Monaldi Arch. Chest Dis.* 2014;82(2):61–67. DOI: 10.4081/monaldi.2014.45.
12. Goh J., Behringer M. Exercise alarms the immune system: A *HMGB1* perspective. *Cytokine*. 2018;110:222–225. DOI: 10.1016/j.cyt.2018.06.031.
13. Kang R., Chen R., Zhang Q., Hou W., Wu S., Cao L., Huang J., Yu Y., Fan X.G., Yan Z., Sun X., Wang H., Wang Q., Tsung A., Billiar T.R., Zeh H.J. 3rd, Lotze M.T., Tang D. *HMGB1* in health and disease. *Mol. Aspects Med.* 2014;40:1–116.

14. Lee G., Espirito Santo A.I., Zwigenberger S., Cai L., Vogl T., Feldmann M., Horwood N.J., Chan J.K., Nanchahal J. Fully reduced HMGB1 accelerates the regeneration of multiple tissues by transitioning stem cells to GAlert. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2018;115(19):E4463–E4472. DOI: 10.1073/pnas.1802893115.
15. Riuzzi F., Sorci G., Sagheddu R., Chiappalupi S., Salvadori L., Donato R. RAGE in the pathophysiology of skeletal muscle. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2018;9(7):1213–1234. DOI: 10.1002/jcsm.12350.
16. Sorci G., Riuzzi F., Arcuri C., Giambanco I., Donato R. Amphoterin stimulates myogenesis and counteracts the antimyogenic factors basic fibroblast growth factor and S100B via RAGE binding. *Mol. Cell Biol.* 2004;24(11):4880–4894. DOI: 10.1128/ MCB.24.11.4880-4894.2004.
17. Tirone M., Tran N.L., Ceriotti C., Gorzanelli A., Canevari M., Bottinelli R., Raucci A., Di Maggio S., Santiago C., Mellado M., Saclier M., François S., Carecia G., He M., De Marchis F., Conti V., Ben Larbi S., Cuvellier S., Casalgrandi M., Preti A., Chazaud B., Al-Abed Y., Messina G., Sitia G., Brunelli S., Bianchi M.E., Vénéreau E. High mobility group box 1 orchestrates tissue regeneration via CXCR4. *J. Exp. Med.* 2018;215(1):303–318. DOI: 10.1084/jem.20160217.
18. Wang H., Bloom O., Zhang M., Vishnubhakat J.M., Ombrellino M., Che J., Frazier A., Yang H., Ivanova S., Borovikova L., Manogue K.R., Faist E., Abraham E., Andersson J., Andersson U., Molina P.E., Abumrad N.N., Sama A., Tracey K.J. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science.* 1999;285(5425):248–251.
19. Zhang C., Gu X., Zhao G., Wang W., Shao J., Zhu J., Yuan T., Sun J., Nie D., Zhou Y. Extracellular HMGB-1 activates inflammatory signaling in tendon cells and tissues. *Ther. Adv. Chronic Dis.* 2020;11:20406223-20956429. DOI: 10.1177/2040622320956429.
20. Zhang J., Li F., Augi T., Williamson K.M., Onishi K., Hogan M.V., Neal M.D., Wang J.H. Platelet HMGB1 in platelet-rich plasma (PRP) promotes tendon wound healing. *PLoS One.* 2021;16(9):e0251166. DOI: 10.1371/journal.pone.0251166.
21. Zhao G., Zhang J., Nie D., Zhou Y., Li F., Onishi K., Billiar T., Wang J.H. HMGB1 mediates the development of tendinopathy due to mechanical overloading. *PLoS One.* 2019;14(9):e0222369. DOI: 10.1371/journal.pone.0222369.

---

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Каркищенко Владислав Николаевич**, д.м.н., проф., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»;

**e-mail:** [scbmt@yandex.ru](mailto:scbmt@yandex.ru)

**Помыткин Игорь Анатольевич**, к.х.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»;

**e-mail:** [ipomytkin@mail.ru](mailto:ipomytkin@mail.ru)

**Петрова Наталья Владимировна\***, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»;

**e-mail:** [m-sklad@yandex.ru](mailto:m-sklad@yandex.ru)

**Станкова Наталия Владимировна**, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»;

**e-mail:** [snv@scbmt.ru](mailto:snv@scbmt.ru)

**Алимкина Оксана Владимировна**, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»;

**e-mail:** [alimkina@scbmt.ru](mailto:alimkina@scbmt.ru)

**Vladislav N. Karkischenko**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

**e-mail:** [scbmt@yandex.ru](mailto:scbmt@yandex.ru)

**Igor A. Pomytkin**, Cand. Sci. (Chem.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

**e-mail:** [ipomytkin@mail.ru](mailto:ipomytkin@mail.ru)

**Nataliya V. Petrova\***, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

**e-mail:** [m-sklad@yandex.ru](mailto:m-sklad@yandex.ru)

**Nataliia V. Stankova**, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

**e-mail:** [snv@scbmt.ru](mailto:snv@scbmt.ru)

**Oksana V. Alimkina**, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

**e-mail:** [alimkina@scbmt.ru](mailto:alimkina@scbmt.ru)



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

**Зубалий Анастасия Михайловна**, к.б.н.,  
ФГБУН «Научный центр биомедицинских тех-  
нологий Федерального медико-биологического  
агентства»;  
**e-mail:** [zanast@mail.ru](mailto:zanast@mail.ru)

**Ларюшина Надежда Андреевна**, ФГБУН  
«Научный центр биомедицинских технологий  
Федерального медико-биологического агентства»;  
**e-mail:** [kichi09@mail.ru](mailto:kichi09@mail.ru)

**Васильева Ирина Андреевна**, ФГБУН  
«Научный центр биомедицинских технологий  
Федерального медико-биологического агентства»;  
**e-mail:** [rozhtul@mail.ru](mailto:rozhtul@mail.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](mailto:fokin@scbmt.ru)

**Anastasiya M. Zubaliy**, Cand. Sci. (Biol.),  
Scientific Center of Biomedical Technologies of the  
Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail:** [zanast@mail.ru](mailto:zanast@mail.ru)

**Nadezhda A. Laryushina**, Scientific Center of  
Biomedical Technologies of the Federal Medical  
and Biological Agency of Russia;  
**e-mail:** [kichi09@mail.ru](mailto:kichi09@mail.ru)

**Irina A. Vasil'eva**, Scientific Center of Biomedical  
Technologies of the Federal Medical and Biological  
Agency of Russia;  
**e-mail:** [rozhtul@mail.ru](mailto:rozhtul@mail.ru)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



## ЦЕНТРАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЛИПОСОМИРОВАННЫХ ФОРМ АЦЕТИЛХОЛИНА И ИНСУЛИНА ПОСРЕДСТВОМ АНАЛИЗА КОГНИТИВНЫХ, ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫХ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ КРЫС

В.Н. Каркищенко, Ю.В. Фокин\*, С.Л. Люблинский, И.А. Помыткин, О.В. Алимкина,  
Л.А. Табоякова, А.В. Капцов, М.М. Борисова, Н.Н. Каркищенко

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»  
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, 1

Изучены центральные механизмы липосомированных форм ацетилхолина и инсулина при трансмукозальном введении крысам. Анализ параметров ультразвуковой вокализации, свободного поведения и когнитивных функций показал непосредственное влияние тестируемых веществ на основные механизмы высшей нервной деятельности. посредством комплексного биомедицинского тестирования установлены и подтверждены анксиолитические признаки с седативным компонентом, обеспечивающие улучшение консолидации памяти и умственных способностей. Наиболее выраженный эффект по анализу ультразвуковой вокализации обнаруживается для инсулина, а наиболее информативные этологические параметры крыс по анализу антидепрессивных свойств в лабиринте установлены на фоне применения ацетилхолина. Курсовое применение в течение 7-ми дней липосомированного инсулина повышает когнитивные способности животных более чем в два раза, ацетилхолина — более чем в четыре раза, что отражает высокочастотные  $\beta$ - и  $\gamma$ -ритмы (выше 20 Гц) гиппокампа, связанные с активностью вставочных нейронов и пирамидных клеток головного мозга. Инновационная таргетная доставка лекарственных веществ на основе нейромедиаторов и гормонов оказывает убедительное влияние ацетилхолина и инсулина на холинергическую и ГАМК-ерическую системы, а также позволяет моделировать и изучать механизмы и способы лечения нейропатий.

**Ключевые слова:** ацетилхолин, инсулин, когнитивные функции, психоэмоциональное состояние, поведение, липосомы, крысы

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Люблинский С.Л., Помыткин И.А., Алимкина О.В., Табоякова Л.А., Капцов А.В., Борисова М.М., Каркищенко Н.Н. Центральные механизмы липосомированных форм ацетилхолина и инсулина посредством анализа когнитивных, психоэмоциональных и поведенческих параметров крыс. *Биомедицина*. 2022;18(1):32–55. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-1-32-55>

Поступила 20.09.2021

Принята после доработки 24.01.2021

Опубликована 10.03.2022

## CENTRAL MECHANISMS OF LIPOSOMATED FORMS OF ACETYLCHOLIN AND INSULIN REVEALED BY AN ANALYSIS OF COGNITIVE, PSYCHO-EMOTIONAL AND BEHAVIORAL PARAMETERS OF RATS

Vladislav N. Karkischenko, Yuriy V. Fokin\*, Stanislav L. Lyublinskiy, Igor A. Pomytkin,  
Oksana V. Alimkina, Lidiya A. Taboyakova, Alexander V. Kaptsov, Mariya M. Borisova,  
Nikolay N. Karkischenko

*Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia  
143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1*

Central mechanisms of the liposomal forms of acetylcholine and insulin were studied during their transmucosal administration to rats. An analysis of the parameters of ultrasonic vocalization, free behavior and cognitive functions showed a direct effect of the tested substances on the main mechanisms of higher nervous activity. By means of complex biomedical testing, anxiolytic signs with a sedative component were established and confirmed, providing an improvement in the consolidation of memory and mental abilities. The most pronounced effect in the analysis of ultrasonic vocalization was observed for insulin, while the most informative ethological parameters of rats in the analysis of antidepressant properties in the maze test were established for acetylcholine. The administration of liposomal insulin and acetylcholine for 7 days increases the cognitive abilities of animals by more than two times and four times, respectively. This reflects high-frequency  $\beta$ - and  $\gamma$ -rhythms (above 20 Hz) of the hippocampus associated with the activity of intercalary neurons and pyramidal brain cells. Innovative targeted delivery of the drugs based on neurotransmitters and hormones has a convincing effect of acetylcholine and insulin on the cholinergic and GABAergic systems. This also facilitates modeling and studying the mechanisms and methods of treating neuropathies.

**Keywords:** acetylcholine, insulin, cognitive functions, psycho-emotional state, behavior, liposomes, rats

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

**For citation:** Karkischenko V.N., Fokin Yu.V., Lyublinskiy S.L., Pomytkin I.A., Alimkina O.V., Taboyakova L.A., Kaptsov A.V., Borisova M.M., Karkischenko N.N. Central Mechanisms of Liposomated Forms of Acetylcholin and Insulin Revealed by an Analysis of Cognitive, Psycho-Emotional and Behavioral Parameters of Rats. *Journal Biomed.* 2022;18(1):32–55. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-1-32-55>

*Submitted 20.09.2021*

*Revised 24.01.2022*

*Published 10.03.2022*

## Введение

В доклинических исследованиях механизмов действия потенциальных лекарственных веществ и фармакологических средств особое место занимает изучение их влияния на характеристики поведения, эмоционального статуса и когнитивных способностей животных. Сведения о функциях всех уровней ЦНС могут быть получены с помощью различных неврологических тестов, включая «Открытое поле» и различные лабиринты. Помещение животного (крысы) в новое окружение ведёт к возникновению исследовательского поведения, которому в то же время препятствуют условия, вызывающие страх. Две антагонистические тенденции характеризуются различным временным ходом. По этой причине, несмотря на уменьшение страха, активность животного к концу опыта снижается.

Лучшим выражением уменьшения страха у животных является исследование ими внутренних секторов, которое постепенно становится более интенсивным от опыта к опыту. Как правило, ориентировочно-исследовательская реакция крыс оценивается по горизонтальной и вертикальной двигательной активности, времени реакции обнюхивания. В то же время эмоциональный статус животного оценивают по числу болюсов, уринаций, груминговой активности, времени выхода из центра и времени замирания [1]. Помимо этого, информативные данные о животных могут быть получены путём измерения их вокализации, существенная часть которой представлена в ультразвуковом диапазоне: она может служить мерой оценки текущего состояния животных и является важной коммуникативной особенностью, которая должна принимать-

ся во внимание при анализе различных социальных аспектов (спаривание, кормление, агрессия, защита и т. д.) [44].

Ацетилхолин (АЦХ) играет критическую роль в развитии и активности коры головного мозга, контроле мозгового кровотока и цикла «сон — бодрствование», а также в модуляции когнитивных функций и процессов обучения и памяти [37]. Уровни ацетилхолина зависят от активности двух противоположно действующих ферментов — холин-ацетилтрансферазы (ChAT; EC 2.3.1.6), катализирующей образование ацетилхолина из холина и ацетил-СоА, и ацетилхолинэстеразы (AChE; EC 3.1.1.7), катализирующей гидролитическое расщепление ацетилхолина. При старении холинэргические нейроны претерпевают умеренные дегенеративные изменения, приводящие к снижению уровней ацетилхолина и холинэргической гипofункции, а также к снижению памяти, наиболее выраженному при болезни Альцгеймера (БА). Ингибиторы ацетилхолинэстеразы, разработанные в рамках этой холинэргической гипотезы, продолжают оставаться основным фармакологическим классом среди средств симптоматического лечения БА [28].

Мозг является инсулинчувствительным органом. Инсулиновые рецепторы (InsR) широко распространены в структурах мозга, где они локализованы преимущественно в синапсах нейронов и в меньшей степени — в астроцитарных клетках [8, 16, 33]. InsR участвуют в формировании и ремоделировании синапсов [12], а также в регуляции синаптической пластичности [15]. Инсулин дозозависимо стимулирует транслокацию функциональных рецепторов N-метил-D-аспартата (NMDA) к клеточной мембране [39] и потенцирует токи рецепторов NMDA [19, 24, 25], облегчая таким образом возбуждающую нейротрансмиссию. Кроме того, инсулин стимулирует транслокацию субъединиц рецептора  $\gamma$ -аминомасляной кисло-

ты типа A (ГАМКА) к поверхности мембраны и увеличивает число функциональных ГАМКА в клеточной мембране [18, 43], тем самым способствуя ингибирующей нейротрансмиссии. InsR участвует в модуляции долговременной потенциации (LTD) и долговременной депрессии (LTD), обучении и памяти [27]. Функции инсулина в мозге не ограничиваются его синаптическими эффектами, но также связаны с его способностью повышать метаболизм глюкозы в мозге. Регулируемый инсулином транспортер глюкозы 4 (GLUT4) экспрессируется в областях мозга, связанных с когнитивным поведением, таких как базальные отделы переднего мозга, гиппокамп, миндалевидное тело, кора головного мозга и мозжечок [9], а также в гипоталамусе, контролирующем потребление пищи и массу тела [22]. Инсулин стимулирует транслокацию GLUT4 в плазматическую мембрану гиппокампа крысы [17], усиливая локальный гликолитический метаболизм и пространственную память [26], особенно во время обучения, сопровождающегося высокой потребностью в энергии [32]. Ингибирование GLUT4 предотвращало эффект усиления когнитивных функций инсулином [31]. Нарушенная передача сигналов InsR вместе с синаптической недостаточностью являются наиболее ранними признаками БА и предшествуют явной дегенерации нейронов [38, 40, 41]. Центральная инсулиновая резистентность, т. е. снижение биологического ответа на инсулин в клетках мозга, рассматривается как один из ключевых патогенетических факторов, находящихся на пересечении метаболических и когнитивных нарушений [23]. В подтверждение этой гипотезы интраназальный инсулин улучшал когнитивные функции у лиц с мягким когнитивным снижением и ранней БА при терапии в течение 4 мес. [14].

О взаимодействии холинэргической системы и инсулиновой сигнальной системы в мозге известно недостаточно,

но то, что известно, указывает на их кооперативное взаимодействие. Совместная локализация InsR и ChAT была обнаружена в нейронах коры головного мозга человека [35, 42]. Молекулярные компоненты сигнальной системы инсулина, такие как InsR, субстрат инсулинового рецептора 1 (IRS-1), протеинкиназа B (PKB или Akt) и гликогенсинтазы киназа  $3\beta$  (GSK- $3\beta$ ), ко-экспрессируются с маркерами холинэргической системы, такими как ChAT, в пирамидальных клетках CA1 региона гиппокампа мыши, что, по мнению авторов, указывает на участие инсулиновой сигнализации в выполнении холинэргическими нейронами их функций [42]. Данные о степени и направлении влияния инсулина на активность ферментов холинэргической системы ChAT и AChE во многом противоречивы и показывают зависимость этих эффектов от локализации нейронов. Инсулин повышал активность ChAT в культуре септальных холинэргических нейронов [10, 21], культуре нейрональных клеток человека PNET2 [35], в нейронах сетчатки глаза [34], но снижал активность ChAT в нейронах стриатума [10]. Инсулин не влиял на активность AChE в гомогенатах мозга крыс в физиологическом интервале концентраций, но повышал эту активность в концентрациях, превышающих физиологические [11]. Инсулин незначительно снижал мРНК AChE и не влиял на экспрессию белка AChE в культуре нейрональных клеток человека PNET2. У больных БА прогрессивное снижение экспрессии инсулина и InsR в коре мозга происходило с одновременным утяжелением клинических симптомов БА и снижением мРНК ChAT при неизменном уровне экспрессии AChE [35]. В целом эти данные указывают на то, что активность инсулина в областях мозга, связанных с выполнением когнитивных функций, по-видимому, направлена на повышение экспрессии ChAT в холинэргических нейронах и на усиление синтеза ацетилхолина,

что особенно важно при лечении гериатрической дисфункции памяти и БА (рис. 1).

Достичь эффективной концентрации в клетке-мишени позволяет адресная доставка лекарственных препаратов с помощью липосом. Основным преимуществом липосомальных частиц является их способность к биодegradации и иммунологическая нейтральность, что позволяет улучшить профиль безопасности ЛС. Основным компонентом липосомальной мембраны являются фосфолипиды, которые обеспечивают её прочность и защиту от механических воздействий. Липосомальные частицы различаются по размеру и количеству бислойных оболочек, образующих везикулы; также выделяют липосомы с неламеллярной организацией. Состав и размер липосом выбирают в зависимости от поставленных целей, включая в мембрану вспомогательные вещества, влияющие на свойства и функции липосом, в т. ч. на скорость высвобождения содержимого везикул, средство липосом к ткани-мишени и др. Создание липосом, чувствительных к различным внешним или внутренним физико-химическим стимулам, позволяет реализовать эффективность ЛС, локализовать место действия и уменьшить количество и серьёзность побочных явлений.

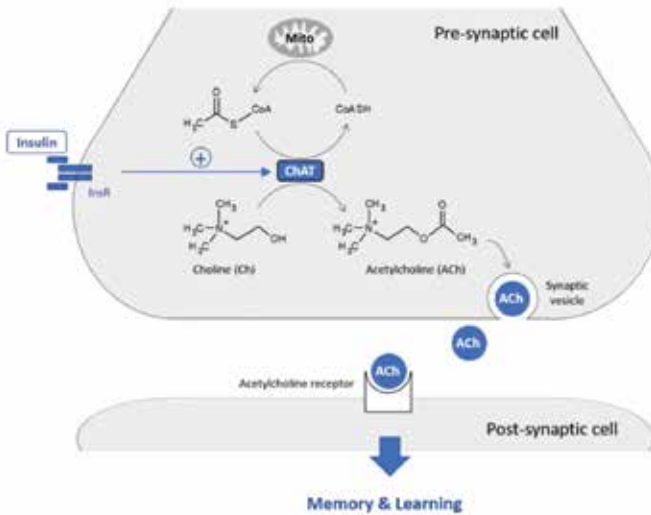
Таким образом, применение липосомированных форм потенциальных лекарственных веществ в качестве инновационной системы их таргетной доставки определило область интересов настоящего исследования.

**Целью** работы явилось изучение центральных механизмов липосомированных форм ацетилхолина и инсулина посредством анализа психоэмоциональных, поведенческих и когнитивных параметров крыс.

## **Материалы и методы**

### **Объекты исследований**

Лабораторные крысы-самцы линии WAG/GY в возрасте 2 мес., конвенцио-



**Рис. 1.** Влияние инсулина на синтез ацетилхолина и холинэргическую нейротрансмиссию. Инсулиновый рецептор (*InsR*) и холинацетилтрансфераза (*ChAT*) ко-экспрессируются в холинэргических нейронах [35, 42]. Инсулин стимулирует экспрессию *ChAT*, усиливая таким образом синтез ацетилхолина (*ACh*) из холина (*Ch*) в коре головного мозга [35]. *ACh* накапливается в синаптических везикулах, секретируется в синаптическую щель и нейротрансмиссию, критически важную в процессах обучения и памяти.

**Fig. 1.** Effect of insulin on acetylcholine synthesis and cholinergic neurotransmission. The insulin receptor (*InsR*) and choline acetyltransferase (*ChAT*) are co-expressed in cholinergic neurons [35, 42]. Insulin stimulates *ChAT* expression, thus enhancing the synthesis of acetylcholine (*ACh*) from choline (*Ch*) in the cerebral cortex [35]. *ACh* accumulates in synaptic vesicles, is secreted into the synaptic cleft, and binds to acetylcholine receptors on the postsynaptic membrane, triggering cholinergic neurotransmission, which is critical in learning and memory processes.

нального статуса, с начальной средней массой 200±10 г, полученные из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская обл., Чеховский р-н). Животные методом рандомизации были разделены на контрольную и две опытные группы по 8 особей в каждой.

Животные содержались в микроизоляторной системе RAIR IsoSystem по 5 особей в клетке. В качестве подстилки использовали стерильные древесные опилки. В качестве корма — стандартный комбикорм гранулированный полнораационный для лабораторных животных (экструдированный) ПК-120 ГОСТ Р 51849-2001 Р.5. Водопроводная очищенная вода всем животным давалась вволю в стандартных поилках. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды: температура возду-

ха — 18–22°C, относительная влажность — 60–70%. Освещение в помещениях — естественно-искусственное. Вновь прибывшие животные находились на карантине в течение 7 дней в клетках. Кормление, содержание, карантин и обращение с животными соответствовали правилам, принятым Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123), Strasbourg, 1986). Исследования выполнялись согласно утверждённому письменному протоколу, в соответствии со стандартными операционными процедурами исследователя, санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию эксперимен-

тально-биологических клиник (вивариев), а также с Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [6].

До эксперимента регистрировались фоновые данные, затем эксперимент проводился на 1-й, 2-й, 4-й и 7-й дни курсового введения (через 1 ч после введения) и через 2 дня (9-й день) после окончания курса введения.

### **Получение липосом с инсулином и ацетилхолином**

Для включения в липосомы готовили р-ры инсулина и ацетилхолина в предварительно подогретой до  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  деионизованной воде.

В подготовленные р-ры постепенно, при постоянном медленном перемешивании, вносили 70%-й фосфатидилхолин с индексом окисленности не более 0,25 до его конечной концентрации 10%.

Подготовленные р-ры инсулина и ацетилхолина с лецитином диспергировали до образования гомогенной преддисперсии, постепенно увеличивая скорость оборотов до 20 тыс. об./мин.

Полученные преддисперсии обрабатывали на гомогенизаторе высокого давления в течение 3–5 циклов по 3–5 мин каждый, постепенно поднимая давление от 10 до 40–80 Мпа, при температуре  $33 \pm 3^\circ\text{C}$ , постоянно контролируя размер полученных частиц с помощью анализатора размера частиц методом лазерной дифракции света (638 нм). При достижении частицами среднего размера  $150 \pm 50$  нм гомогенизация завершалась.

По окончании гомогенизации в дисперсию добавляли криопротектор в соотношении к фосфолипидам 1:2 и вновь гомогенизировали в течение одного цикла при 10–20 МПа для получения конечного р-ра липосом.

Подготовленные липосомальные дисперсии лиофилизировали. В полученных конечных продуктах содержалось 100 мг (2860 МЕ) инсулина и 100 мг ацетилхолина.

### **Способ введения и дозы исследуемых нейротропных средств**

Липосомированные формы АЦХ и инсулина вводились трансмукозально в дозах, эквивалентных массе тела крыс, ежедневно, однократно, в течение 7-ми сут, что позволяет установить информативные признаки их влияния на центральную нервную систему (ЦНС) животных.

Ежедневная доза АЦХ в липосомах составляла 2,5 мг/кг (по АЦХ), или 34 мг/кг (по лиофилизату); доза инсулина в липосомах — 270 мг/кг (исходя из расчёта 10 МЕ/организм).

Контрольная группа животных получала эквивалентное количество липосом в физ. р-ре, вводимых аналогичным способом.

### **Выявление центральных механизмов действия нейротропных средств**

#### **Анализ когнитивных функций**

Когнитивные функции, которые, по нашим собственным данным и сведениям зарубежной литературы [2, 3, 4, 29, 30], связаны с активностью высокочастотного  $\gamma$ -диапазона электрограмм мозга [7, 13, 20, 36], оценивались с помощью инструментальных методов измерения элементарных проявлений и перцептивных циклов сложных поведенческих эквивалентов психомоторных реакций человека.

#### **Условная реакция активного избегания (УРАИ)**

Каждое животное помещалось в камеру «Шелтер» (ООО «Нейроботикс», Россия). К программному обеспечению фирмы-производителя применялся следующий разработанный сценарий (УРАИ-НЦБМТ): 5 сек — свет, 2 сек — звук, 5 сек — электрораздражение. Суммарный цикл (12 сек) повторялся 5 раз. При первом измерении (фоновые данные) крысы обучались переходить из одного отсека камеры в другой таким образом, чтобы не получить электрокожного раздражения (запоминая, что сначала



в отсеке камеры, где они находятся, включается свет, потом звук, потом — электроток). Регистрировалось время реакции в секундах по каждому из 5-ти циклов (максимально — 12 сек), а также суммарное перемещение (пройденный путь) в метрах. Таким образом, общее время теста составляло 1 мин, после чего крыса извлекалась из камеры и возвращалась в клетку.

#### **Анализ психоэмоциональных параметров**

Ультразвуковые волны фиксировались с помощью специальных микрофонов системы Sonotrack («Metris B.V.», Нидерланды). Микрофоны устанавливались дистантно, на расстоянии 20–25 см от головы животных. Частота дискретизации составляла 200 кГц, сигнал записывался в цифровом формате. Регистрацию ультразвуковых колебаний осуществляли в течение 15 мин, непрерывно. После удаления физических артефактов (монотонных шумов) осуществляли спектральный анализ ультразвука с использованием процедуры быстрого преобразования Фурье в частотной полосе от 15 до 100 кГц с помощью пакета программ MATLAB методом Уэлча, в результате получали вектор-строку изменений ультразвука, в котором находили максимум, приравнявая его к 100%, остальные значения изменяли пропорционально максимуму. После этого находили медианы по каждой частоте, учитывая все эпохи анализа в эксперименте для каждого животного и по группам. Для оценки статистической значимости изменений внутри группы использовали 95%-й доверительный интервал.

#### **Анализ поведенческих параметров**

##### *Тест «Открытое поле»*

Регистрация поведенческих компонентов происходила с применением компьютерной системы Laboras («Metris B.V.», Нидерланды), которая позволяла вычислять длительность таких форм поведения, как локомоции (горизонтальная активность), неподвижность (иммобилизация), стойки

(вертикальная активность), умывание (груминг). Кроме того, оценивалось время прочих элементов системного поведения.

По каждому животному определяли длительность каждой формы поведения от общего интервала исследования, составлявшего 15 мин (900 сек). Полученные данные группировали в зависимости от тестируемого препарата, временного промежутка и формы поведения, рассчитывали среднее значение каждого показателя по группе животных и сравнивали с сопоставимым результатом контрольной группы.

##### *Приподнятый крестообразный лабиринт*

Регистрация этологических компонентов, отражающих психоэмоциональные и ориентировочно-исследовательские функции животных, происходила с применением установки «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ООО «Открытая наука», Россия) и видеокамеры «Минотавр» (ООО «Нейроботикс», Россия), которая записывала данные в цифровом формате, а с помощью программного обеспечения вычислялись такие формы поведения, как длительность нахождения в центральной зоне лабиринта, открытых и закрытых «рукавах», количество стоек (вертикальная активность).

Общая длительность исследования составляла 1 мин (60 сек). Полученные данные группировали в зависимости от тестируемого препарата, временного промежутка и формы поведения, рассчитывали среднее значение каждого показателя по группе животных и сравнивали с сопоставимым результатом контрольной группы.

#### **Результаты и их обсуждение**

##### **Анализ когнитивных функций**

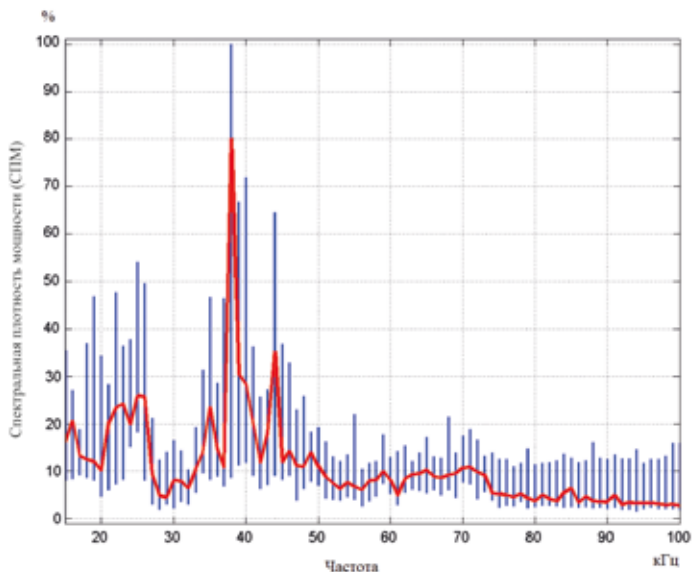
Результаты исследования когнитивных функций крыс с помощью УРАИ-теста представлены в табл. 1.

Установлено, что оба исследованных вещества значительно улучшают когнитивные

**Таблица 1.** Время реакции (среднее по группе) крыс в тесте «Условная реакция активного избегания», сек  
**Table 1.** Reaction time (average for the group) of rats in the conditioned active avoidance test, sec

Период	Группа	M±m, сек	% к фону	Разница с контролем, %
Фон	АЦХ-липо	7,2±1,05	100	
	Инсулин-липо	6,4±1,16	100	
	Контроль	5,9±0,86	100	
1-й день	АЦХ-липо	9,9±0,99	137	35
	Инсулин-липо	9,2±1,27	144	28
	Контроль	10,2±0,62	172	
2-й день	АЦХ-липо	8,5±1,40	117	47
	Инсулин-липо	10,8±0,66	170	6
	Контроль	9,7±1,16	164	
4-й день	АЦХ-липо	11,3±0,41	156	36
	Инсулин-липо	11,4±0,39	179	14
	Контроль	11,4±0,43	193	
7-й день	АЦХ-липо	11,7±0,37	161	39
	Инсулин-липо	10,9±0,63	171	30
	Контроль	11,8±0,19	201	
9-й день	АЦХ-липо	11,1±0,74	153	51
	Инсулин-липо	11,5±0,57	180	24
	Контроль	12,0±0,00	204	

Фоновые данные



**Рис. 2.** УЗВ крыс группы «Контроль» в фоновых измерениях. По оси абсцисс — частота УЗВ, кГц. По оси ординат — спектральная плотность мощности (СПМ) УЗВ, %. Красная кривая — медианы частот, синие линии — 95%-й доверительный интервал (25-й и 75-й процентиля).

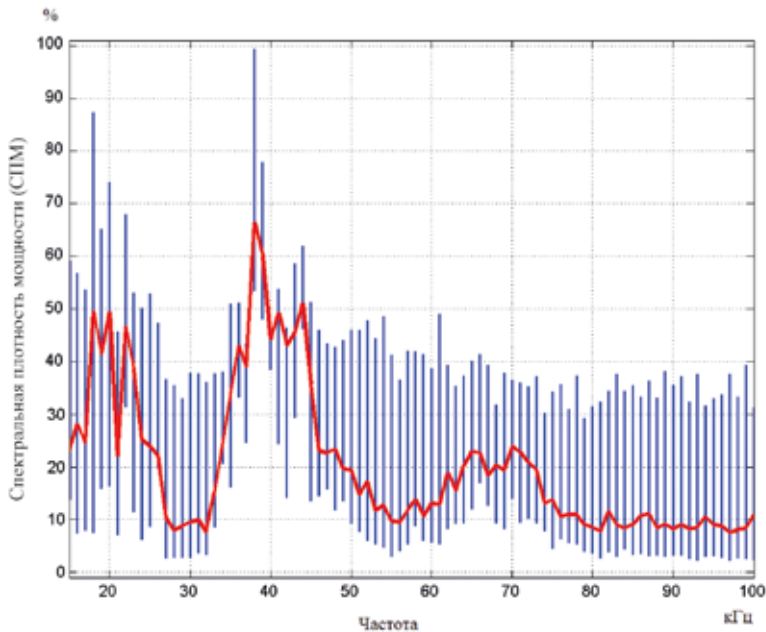
**Fig. 2.** USV of rats in the control group in background measurements. The abscissa shows the USV frequency, kHz. The y-axis shows the power spectral density (PSD) of USV, %. Red curve — medians of frequencies, blue lines — 95% confidence interval (25th and 75th percentiles).

функции (обучение, память) крыс: на всех этапах эксперимента обнаруживается уменьшение времени реакции (более быстрый переход из одного отсека камеры в другой до включения электрокожного раздражения) по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе. Наибольший суммарный результат отмечается в группе «АЦХ-липо» (208%) по сравнению с группой «Инсулин-липо» (102%).

**Анализ психоэмоциональных параметров**

Информативные параметры психоэмоционального состояния крыс, исследованные с помощью анализа их ультразвуковой вокализации (УЗВ), представлены на рис. 2–19.

Максимум СПМ УЗВ животных обнаруживается на частоте около 38 кГц, что свидетельствует о преимущественно позитивном, комфортном эмоциональном состоянии животных (рис. 2).

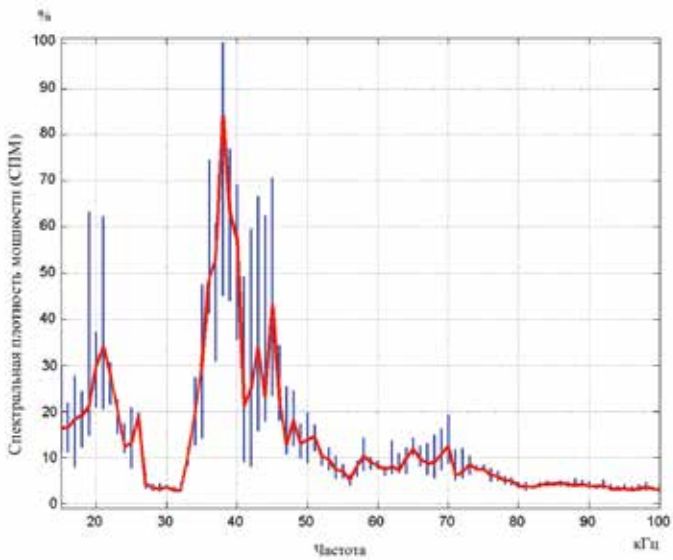


**Рис. 3.** УЗВ крыс группы «АЦХ-липо» в фоновых измерениях. Все обозначения — как на рис. 2.

**Fig. 3.** USV of rats in the acetylcholine liposomal group in background measurements. All designations are similar to those in Fig. 2.

Пики УЗВ сходной мощности регистрируются в диапазонах 18–22 и 37–39 кГц, что свидетельствует о переходном, погра-

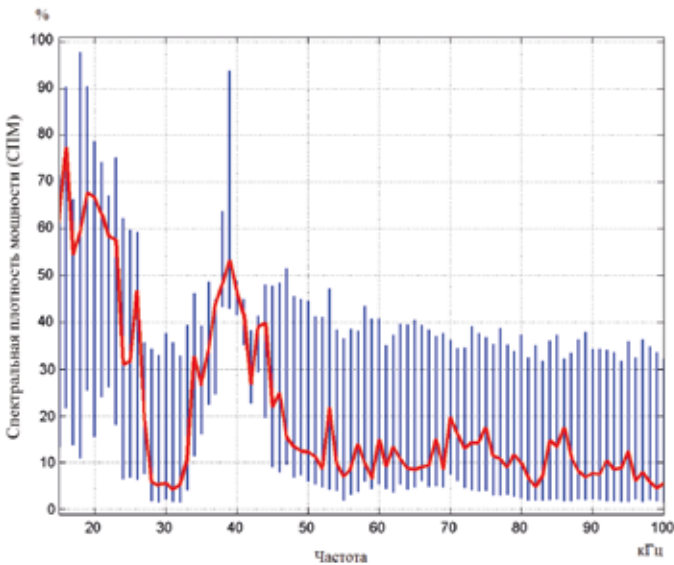
ничном эмоциональном состоянии животных (рис. 3).



**Рис. 4.** УЗВ крыс группы «Инсулин-липо» в фоновых измерениях. Все обозначения — как на рис. 2.  
**Fig. 4.** USV of rats in the insulin liposomal group in background measurements. All designations are similar to those in Fig. 2.

Максимум СПМ УЗВ животных обнаруживается на частоте около 38 кГц, что свидетельствует о преимущественно позитивном, комфортном эмоциональном состоянии животных (рис. 4).

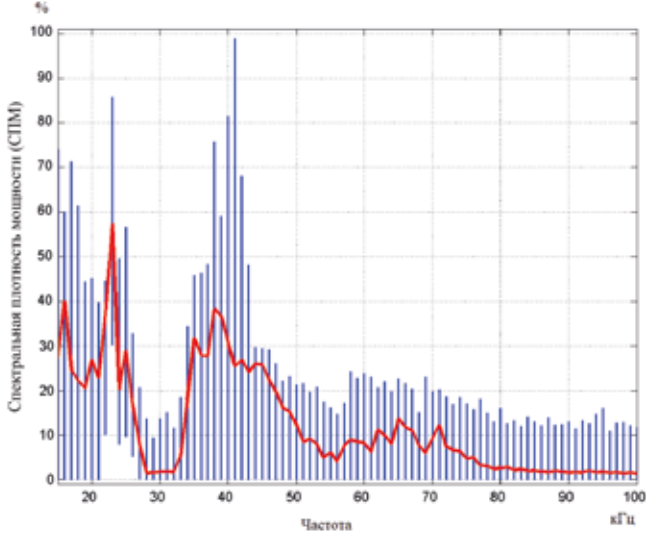
#### 1-й день эксперимента



**Рис. 5.** УЗВ крыс группы «Контроль» в 1-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.  
**Fig. 5.** USV of rats in the control group on the 1st day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.

Максимум СПМ УЗВ животных обнаруживается в диапазоне 16–26 кГц. Дополнительные пики мощности регистрируются на частоте около 39 кГц, однако их

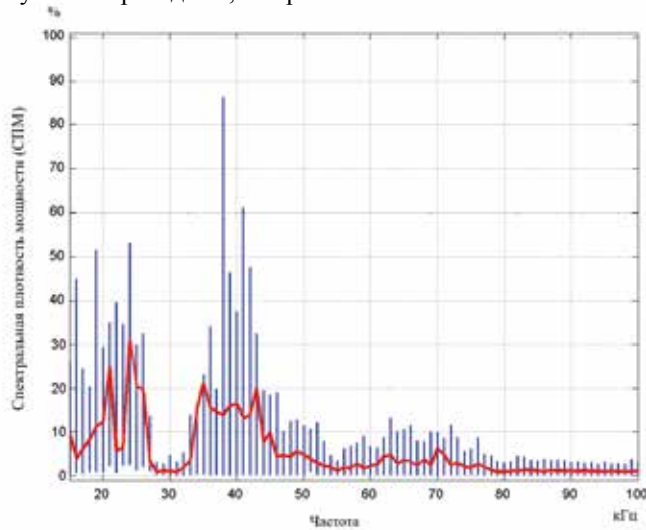
СПМ почти на 30% меньше доминирующей. На основании этого можно заключить о преимущественно тревожном, напряжённом эмоциональном состоянии животных (рис. 5).



**Рис. 6.** УЗВ крыс группы «АЦХ-липо» в 1-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.  
**Fig. 6.** USV of rats in the acetylcholine liposomal group on the 1st day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.

Пики УЗВ сходной мощности регистрируются на частотах около 16, 23 и 38 кГц, что свидетельствует о переходном, погра-

ничном эмоциональном состоянии животных (рис. 6).



**Рис. 7.** УЗВ крыс группы «Инсулин-липо» в 1-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.  
**Fig. 7.** USV of rats in the insulin liposomal group on the 1st day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.

Пики УЗВ сходной мощности регистрируются на частотах около 21, 25 и 35–43 кГц, что свидетельствует о переходном, пограничном эмоциональном состоянии животных (рис. 7).

2-й день эксперимента

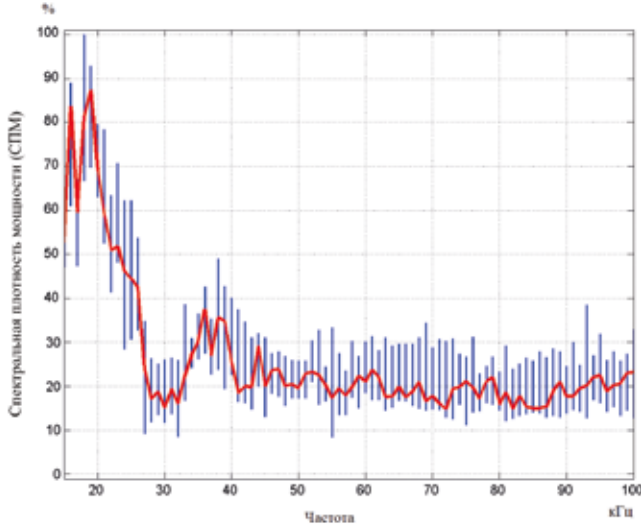


Рис. 8. УЗВ крыс группы «Контроль» во 2-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.  
Fig. 8. USV of rats in the control group on the 2st day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.

Максимум СПМ УЗВ животных обнаруживается в диапазоне 16–19 кГц, что свидетельствует о тревожном, напряжённом эмоциональном состоянии животных (рис. 8).

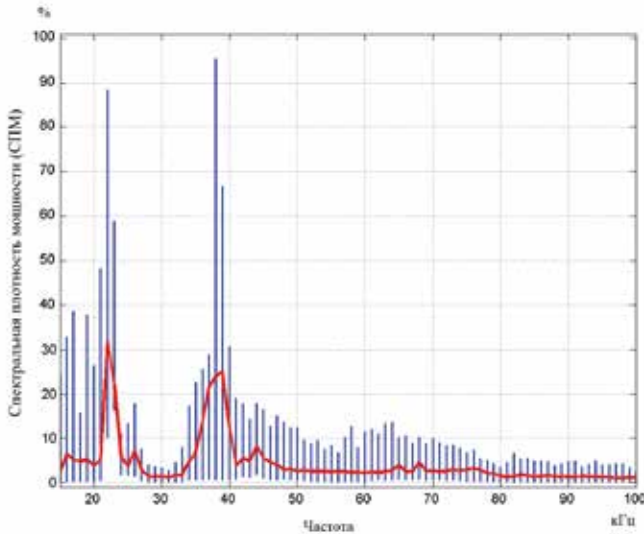
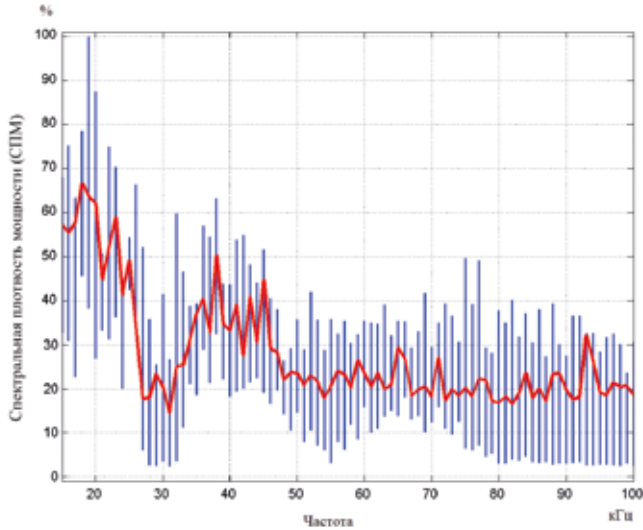


Рис. 9. УЗВ крыс группы «АЦХ-липо» во 2-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.  
Fig. 9. USV of rats in the acetylcholine liposomal group on the 2st day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.

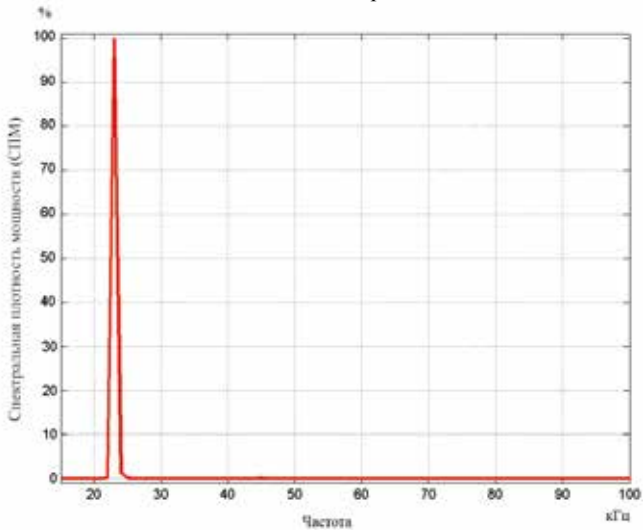
Пики УЗВ сходной мощности регистрируются на частотах около 22 и 39 кГц, что свидетельствует о переходном, пограничном эмоциональном состоянии животных (рис. 9).



**Рис. 10.** УЗВ крыс группы «Инсулин-липо» во 2-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.  
**Fig. 10.** USV of rats in the insulin liposomal group on the 2st day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.

Пики УЗВ сходной мощности регистрируются в диапазонах 18–25 и 37–45 кГц, что свидетельствует о переходном, пограничном эмоциональном состоянии животных (рис. 10).

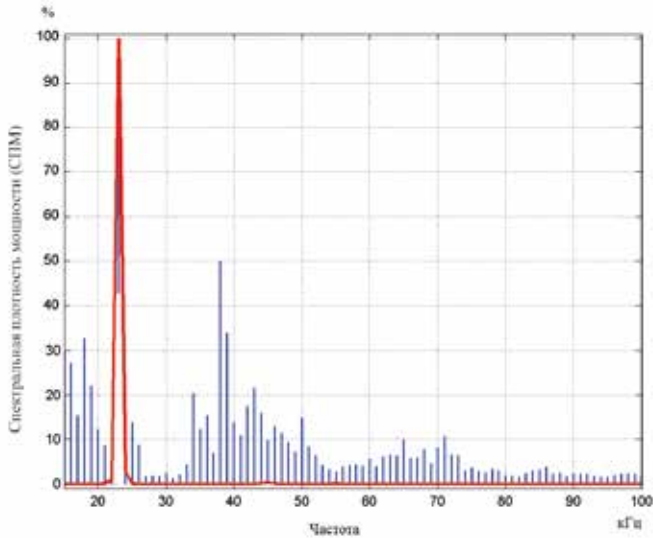
4-й день эксперимента



**Рис. 11.** УЗВ крыс группы «Контроль» в 4-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.  
**Fig. 11.** USV of rats in the control group on the 4st day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.



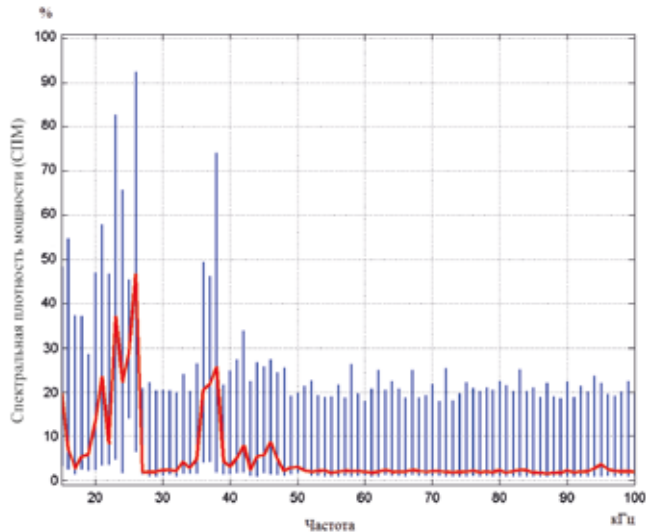
Вся СПМ УЗВ животных обнаруживается на частоте около 23 кГц, что свидетельствует о дискомфортном, дистрессовом эмоциональном состоянии животных (рис. 11).



**Рис. 12.** УЗВ крыс группы «АЦХ-липо» в 4-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.

**Fig. 12.** USV of rats in the acetylcholine liposomal group on the 4th day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.

Максимум СПМ УЗВ животных обнаруживается на частоте около 23 кГц, что свидетельствует о дискомфортном эмоциональном состоянии животных (рис. 12).



**Рис. 13.** УЗВ крыс группы «Инсулин-липо» в 4-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.

**Fig. 13.** USV of rats in the insulin liposomal group on the 4th day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.

Максимум СПМ УЗВ животных обнаруживается на частоте около 27 кГц. Дополнительные пики мощности регистрируются на частоте около 38 кГц, однако их

СПМ на 20% меньше доминирующей. На основании этого можно заключить о преимущественно тревожном, напряжённом эмоциональном состоянии животных (рис. 13).

7-й день эксперимента

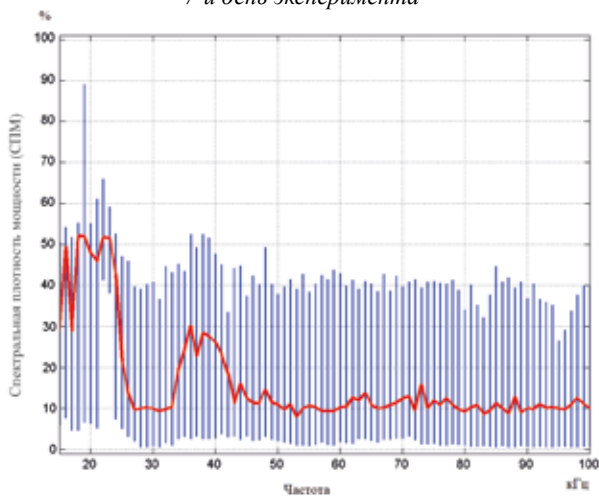


Рис. 14. УЗВ крыс группы «Контроль» в 7-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.

Fig. 14. USV of rats in the control group on the 7st day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.

Максимум СПМ УЗВ животных обнаруживается в диапазоне 16–23 кГц. Дополнительные пики мощности регистрируются в диапазоне 36–38 кГц, однако их

СПМ на 20–25% меньше доминирующей. На основании этого можно заключить о преимущественно тревожном, напряжённом эмоциональном состоянии животных (рис. 14).

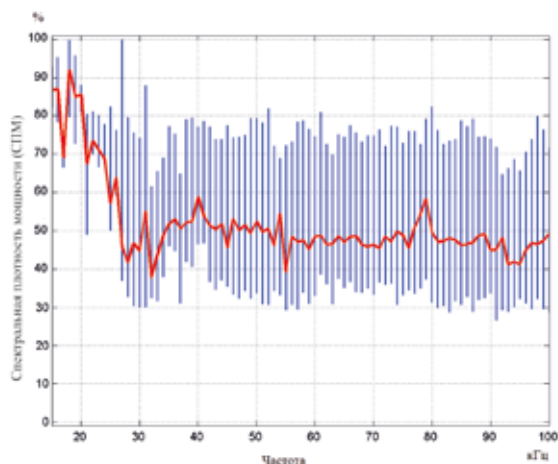
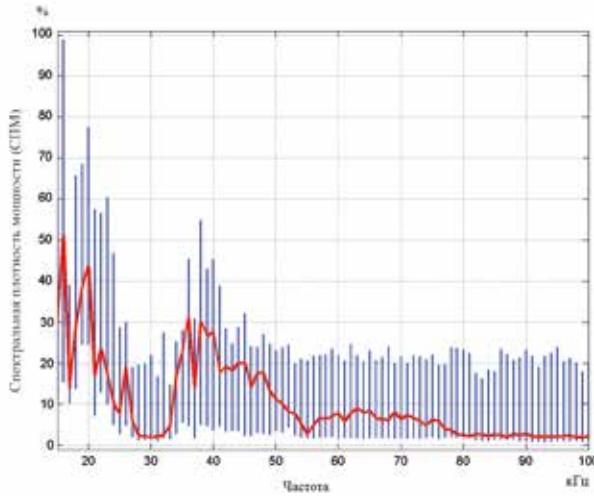


Рис. 15. УЗВ крыс группы «АЦХ-липо» в 7-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.

Fig. 15. USV of rats in the acetylcholine liposomal group on the 7st day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.

Максимум СПМ УЗВ животных обнаруживается в диапазоне 16–19 кГц. Дополнительные пики мощности регистрируются на частоте около 40 кГц, однако их

СПМ на 20% меньше доминирующей. На основании этого можно заключить о преимущественно тревожном, напряжённом эмоциональном состоянии животных (рис. 15).



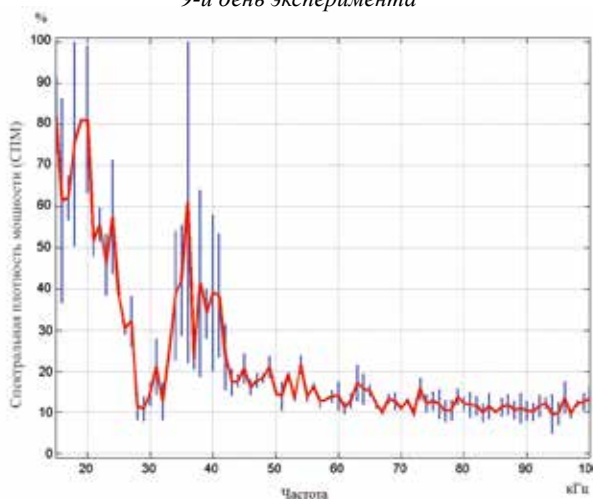
**Рис. 16.** УЗВ крыс группы «Инсулин-липо» в 7-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.

**Fig. 16.** USV of rats in the insulin liposomal group on the 7th day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.

Максимум СПМ УЗВ животных обнаруживается в диапазоне 16–20 кГц. Дополнительные пики мощности регистрируются в диапазоне 36–40 кГц, однако их

СПМ на 20% меньше доминирующей. На основании этого можно заключить о преимущественно тревожном, напряжённом эмоциональном состоянии животных (рис. 16).

9-й день эксперимента

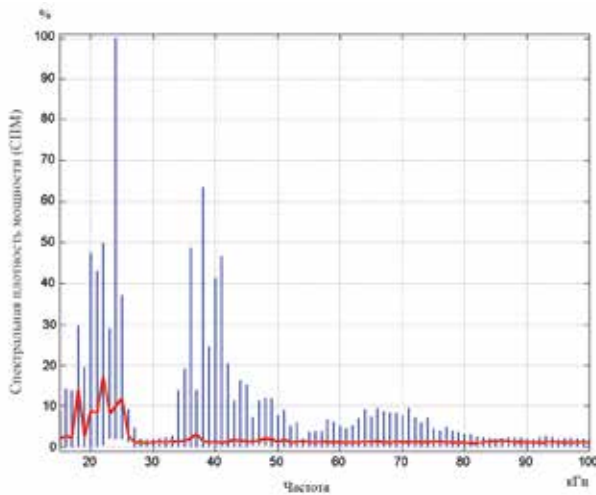


**Рис. 17.** УЗВ крыс группы «Контроль» в 9-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.

**Fig. 17.** USV of rats in the control group on the 9th day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.

Максимум СПМ УЗВ животных обнаруживается в диапазоне 15–20 кГц и на частоте около 25 кГц. Дополнительные пики мощности регистрируются на частоте около 37 кГц, однако их СПМ на 20% меньше

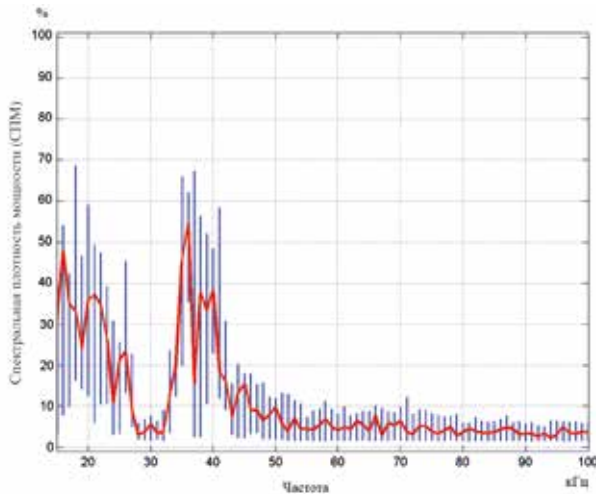
доминирующей. На основании этого можно заключить о преимущественно тревожном, напряжённом эмоциональном состоянии животных (рис. 17).



**Рис. 18.** УЗВ крыс группы «АЦХ-липо» в 9-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.

**Fig. 18.** USV of rats in the acetylcholine liposomal group on the 9th day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.

Обнаруживается в диапазоне 17–25 кГц, напряжённом эмоциональном состоянии животного свидетельствует о тревожном, на-



**Рис. 19.** УЗВ крыс группы «Инсулин-липо» в 9-й день эксперимента. Все обозначения — как на рис. 2.

**Fig. 19.** USV of rats in the insulin liposomal group on the 9th day of the experiment. All designations are similar to those in Fig. 2.

Пики УЗВ сходной мощности регистрируются на частотах около 16, 22, 36 и 38–40 кГц, что свидетельствует о переходном, пограничном эмоциональном состоянии животных (рис. 19).

Установлено, что до начала введения тестируемых веществ психоэмоциональное состояние животных оценивалось как близкое к комфортному. В 1-й день введения во всех группах обнаруживается переходное (пограничное) состояние, что связано с проводимыми манипуляциями. Однако во 2-й день эксперимента в опытных группах СПМ УЗВ существенно выше в диапазоне «комфорта» по сравнению с результатом в контрольной группе. В 4-й день курсового введения данный эффект прослеживается в группе вещества «Инсулин-липо». На 7-й день эксперимента убедительных отличий

в УЗВ животных контрольной и опытных групп не обнаруживается, а спустя 2 дня после окончания курса введения (9-й день) животные группы «Инсулин-липо» снова характеризуются более благоприятным психоэмоциональным состоянием по сравнению с контролем.

В целом следует заключить, что тестируемые вещества обладают признаками анксиолитических средств с седативным компонентом, наиболее выраженный эффект обнаруживается для вещества «Инсулин-липо».

#### *Анализ поведенческих параметров*

##### *Тест «Открытое поле»*

Результаты исследования свободного поведения крыс представлены в табл. 2. В контрольной группе животных на протяжении всего эксперимента наблюдались

**Таблица 2.** Средняя длительность поведенческих форм крыс в тесте «Открытое поле» (Laboras), сек  
**Table 2.** Mean duration of behavioral forms in rats in the Open Field test (Laboras), sec

Период исследования	Длительность формы поведения (сек)				
	ЭСП	Г. а.	Им.	В. а.	Гр.
<i>Контрольная группа</i>					
Фон	197	44	116	371	172
1-й день	234	36	163	248	219
2-й день	235	58	186	200	221
4-й день	285	43	144	206	222
7-й день	225	38	180	219	238
9-й день	238	56	95	297	214
<i>Инсулин-липо</i>					
Фон	289	52	110	329	120
1-й день	323	33	161	184	199
2-й день	345	25	280	143	107
4-й день	336	35	182	210	137
7-й день	317	44	143	281	115
9-й день	298	47	84	272	199
<i>АЦХ-липо</i>					
Фон	181	68	150	261	240
1-й день	222	40	165	224	249
2-й день	295	47	176	203	179
4-й день	200	43	225	188	244
7-й день	220	55	161	245	219
9-й день	278	36	124	202	260

**Примечание:** ЭСП — элементы системного поведения; Г. а. — горизонтальная активность (локомоции); Им. — иммобилизация (неподвижность); В. а. — вертикальная активность (стойки); Гр. — груминг (умывание).  
**Note:** ЭСП — elements of systemic behavior; Г. а. — horizontal activity (locomotion); Им. — immobilization (immobility); В. а. — vertical activity (ascents); Гр. — grooming (washing).

повышение длительности умывания и ЭСП, преимущественное повышение неподвижности, снижение вертикальной активности и полифазные изменения в горизонтальной активности.

В обеих опытных группах также наблюдались повышение длительности ЭСП, преимущественное повышение неподвижности, снижение вертикальной активности, полифазные изменения в горизонтальной активности и длительности умывания.

Можно отметить, что отличия эффектов опытных групп от сопоставимых эффектов контрольной группы заключаются в снижении горизонтальной активности во 2-й и 9-й

дни эксперимента, а также длительности умывания во 2-й и 7-й дни эксперимента.

Таким образом, исследуемые препараты, по всей видимости, обладают седативными признаками.

*Приподнятый крестообразный лабиринт*

Результаты исследования информативных этологических параметров крыс представлены в табл. 3.

В контрольной группе животных на протяжении всего эксперимента наблюдались преимущественное снижение длительности пребывания животных в центральной зоне и закрытых «рукавах» лабиринта, преимущественное повышение количества

**Таблица 3.** Информативные этологические параметры (средние по группе) крыс в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

**Table 3.** Informative ethological parameters (group averages) of rats in the Elevated Plus Maze test

Период исследования	Этологические параметры			
	Т з. р., сек	Т о. р., сек	Т ц. з., сек	Н в. а.
<i>Контрольная группа</i>				
Фон	10,98	10,00	3,51	0,13
1-й день	11,04	8,51	2,70	0,39
2-й день	8,41	11,56	2,95	0,76
4-й день	12,30	7,50	2,88	0,89
7-й день	6,23	9,68	1,01	0,39
9-й день	10,89	6,94	2,19	0,25
<i>Инсулин-липо</i>				
Фон	15,76	7,09	3,68	0,26
1-й день	8,65	8,11	3,49	0,00
2-й день	11,24	7,12	2,52	0,50
4-й день	5,87	12,10	1,59	0,75
7-й день	8,49	7,93	4,50	0,38
9-й день	7,25	11,99	3,61	0,00
<i>АЦХ-липо</i>				
Фон	15,53	7,94	2,95	1,64
1-й день	11,25	9,03	2,83	0,76
2-й день	6,11	12,04	2,30	0,13
4-й день	4,30	10,43	2,71	0,26
7-й день	4,66	10,83	2,83	0,51
9-й день	7,58	7,76	2,59	0,00

**Примечание:** Т з. р. — время нахождения в закрытых «рукавах» лабиринта; Т о. р. — время нахождения в открытых «рукавах» лабиринта; Т ц. з. — время нахождения в центральной зоне лабиринта; Н в. а. — количество эпизодов вертикальной активности (стоек).

**Note:** Т з. р. — the time spent in the closed spaces of the labyrinth; Т о. р. — the time spent in the open spaces of the labyrinth; Т ц. з. — the time spent in the central zone of the labyrinth; Н в. а. — the number of vertical activity episodes (ascents).

стоек и полифазные изменения длительности пребывания в открытых «рукавах» лабиринта. Такая этологическая картина в целом типична для данного исследования и отражает привыкание животных к новым условиям среды.

В обеих опытных группах наблюдалось: тотальное снижение длительности пребывания животных в закрытых «рукавах» лабиринта; преимущественное (для препарата «Инсулин-липо») и тотальное (для препарата «АЦХ-липо») снижение длительности пребывания животных в центральной зоне; преимущественное (для препарата «АЦХ-липо») и тотальное (для препарата «Инсулин-липо») повышение длительности пребывания в открытых «рукавах» лабиринта; тотальное снижение количества стоек (для препарата «АЦХ-липо») и полифазные изменения этого показателя для препарата «Инсулин-липо».

Таким образом, наблюдаемая этологическая картина, характеризующаяся повышением времени пребывания в открытых «рукавах» лабиринта и снижением – в закрытых «рукавах», центральной зоне и вертикальной активности, свидетельствует об улучшении психоэмоционального состояния животных (снижении тревожности, повышении ориентировочно-исследовательской активности) на фоне применения исследуемых препаратов. По сумме эпизодов, когда были зафиксированы отличия от контрольной группы, наиболее предпочтительным следует считать препарат «АЦХ-липо».

Ацетилхолин – распространённый медиатор нервной системы, контролирующей процесс возбуждения в коре головного мозга, нейронах спинного мозга (клетках Реншоу), парасимпатическом отделе вегетативной нервной системы, в результате чего обеспечиваются линейные изменения в поведении и психоэмоциональном состоянии животных, а также улучшение их когнитивных способностей.

Сопоставляя описанные результаты с полученными нами ранее при изучении основных нейромедиаторов, включая АЦХ, можно проследить общность в установленных седативных эффектах и информативных параметрах УЗВ [5]. Схожие эффекты наблюдаются при использовании липосомированных форм гормона инсулина, контролирующего опосредованное влияние ГАМК на интрацентральные отношения головного мозга и высшую нервную деятельность животных. Это даёт основания предполагать, что действие АЦХ и инсулина отражает центральные механизмы холинергической и ГАМК-ергической модуляции гиппокампа и префронтального неокортекса, а также оказывает позитивное влияние на умственную работоспособность и когнитивные процессы.

## Выводы

Установлено, что нейромедиатор ацетилхолин и гормон инсулин, применяемые в липосомированных формах, оказывают влияние на центральные механизмы высшей нервной деятельности и коррелируют посредством преобразования частотно-спектральных характеристик ультразвуковой вокализации, параметров свободного поведения и когнитивных способностей лабораторных крыс.

Основной результат исследования состоит в том, что липосомированные инсулин и ацетилхолин обладают односторонним действием. Тестируемые вещества обладают признаками анксиолитических средств с седативным компонентом. Наиболее выраженный эффект по анализу ультразвуковой вокализации обнаруживается для инсулина, а наиболее информативные этологические параметры крыс по анализу антидепрессивных свойств в лабиринте установлены на фоне применения ацетилхолина. Курсовое недельное применение липосомированного инсулина повышает когнитивные способности жи-



вотных более чем в два раза, ацетилхолина – более чем в четыре раза, что отражает высокочастотные  $\beta$ - и  $\gamma$ -ритмы (выше 20 Гц) гиппокампального отдела головного мозга, связанные с активностью вставочных нейронов и пирамидных клеток, модулирующих протivotревожное, антидепрессивное, обезболивающее и прочие сходные действия исследуемых веществ, а также улучшение консолидации памяти и когнитивных функций.

Полученные результаты указывают на перспективность применения липосомированных форм ацетилхолина и инсулина

в качестве инновационных средств лечения заболеваний центральной нервной системы, вызванных дисфункцией холинэргической системы, в т. ч. гериатрических нарушений памяти и деменции. Найденное нами однонаправленное действие липосомированных форм инсулина и ацетилхолина является основанием для экспериментальной проверки гипотезы о том, что совместное применение инсулина и ацетилхолина может обладать синергическим эффектом на холинэргическую систему, что является предметом дальнейших исследований и публикаций.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж.П. *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*. М.: Высшая школа, 1991. 399 с. [Buresh Ya., Bureshova O., Houston J.P. *Metodiki i osnovnye eksperimenty po izucheniyu mozga i povedeniya* [Methods and basic experiments in the study of the brain and behavior]. Moscow: Vysshaya shkola Publ., 1991. 399 p. (In Russian)].
2. Канаян А.С., Пермаков Н.К., Титова Г.П. и др. Влияние синтетических аналогов лей-энкефалина на жизнеспособные отделы поджелудочной железы при экспериментальном панкреатите. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1988;4:447–450. [Kanayan A.S., Permakov N.K., Titova G.P., et al. Vliyaniye sinteticheskikh analogov lej-enkefalina na zhiznesposobnyye otdely podzheludochnoy zhelezy pri eksperimenatal'nom pankreatite [Effect of synthetic analogs of leuencephalin on viable pancreas in experimental pancreatitis]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1988;4:447–450. (In Russian)].
3. Каркищенко Н.Н. *Психоунитропизм лекарственных средств*. М.: Медицина, 1993:208. [Karkischenko N.N. *Psikhounitropizm lekarstvennykh sredstv* [Psychunitropism of medicines]. Moscow: Medicina Publ., 1993:208. (In Russian)].
4. Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Табоjakова Л.А., Алимкина О.В., Борисова М.М. Между когнитивностью и нейропатиями: нейровизуализация эффектов ГАМК-эргической модуляции гиппокампа и префронтального неокортекса по нормированным электрограммам мозга. *Биомедицина*. 2020;16(2):12–38. [Karkischenko N.N., Karkischenko V.N., Fokin Yu.V., Taboyakova L.A., Alimkina O.V., Borisova M.M. Mezhdru kognitivnost'yu i nejropatijami: nejrovizualizaciya effektivov GAMK-ergicheskoj modulyacii gippokampa i prefrontal'nogo neokorteksa po normirovannym elektrogrammam mozga [Between cognitivity and neuropathies: neurovisualization of effects of GABAergic modulation of the hippocampus and prefrontal neocortex on normed brain electrograms]. *Biomedicine*. 2020;16(2):12–38. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-16-2-12-38.
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 её 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 generacii ul'trazvukovoj vokalizacii i eyo korrelyacii 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. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях* / Под ред. Н.Н. Каркищенко и др. М.: Профиль-2С, 2010:358. [Rukovodstvo po laboratornym zhivotnym i al'ternativnym modelyam v biomeditsinskikh issledovaniyah [Manual on laboratory animals and alternative models in biomedical research]. Ed. by N.N. Karkischenko, et al. Moscow: Profil'-2S Publ., 2010:358. (In Russian)].
7. Узбеков М.Г. Активность триптофан-5-гидролазы в синапсоммах мозга кролика после однократного введения опиоидного пептида Tur D – Ala – Gly – Phe – NH<sub>2</sub>. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1986;2:159–160. [Uzbekov M.G. Aktivnost' triptofan-5-gidrolazy v sinaptosomah mozga krolika posle odnokratnogo vvedeniya opioidnogo peptida Tur D – Ala – Gly – Phe – NH<sub>2</sub> [Tryptophan-5-hydrolase activity in rabbit brain synaptosomes af-

- ter a single administration of the Tur D – Ala – Gly – Phe – NH<sub>2</sub> opioid peptide]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1986;2:159–160. (In Russian)].
8. Abbott M.A., Wells D.G., Fallon J.R. The insulin receptor tyrosine kinase substrate p58/53 and the insulin receptor are components of CNS synapses. *J. Neurosci.* 1999;19:7300–7308.
  9. Apelt J., Mehlhorn G., Schliebs R. Insulin-sensitive GLUT4 glucose transporters are colocalized with GLUT3-expressing cells and demonstrate a chemically distinct neuron-specific localization in rat brain. *J. Neurosci. Res.* 1999;57(5):693–705.
  10. Brass B.J., Nonner D., Barrett J.N. Differential effects of insulin on choline acetyltransferase and glutamic acid decarboxylase activities in neuron-rich striatal cultures. *J. Neurochem.* 1992;59(2):415–424.
  11. Catalan R., Martinez A., Mata F., Aragones M. Effect of insulin on acetylcholinesterase activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1981;101:1216–1220.
  12. Chiu S.L., Cline H.T. Insulin receptor signaling in the development of neuronal structure and function. *Neural. Dev.* 2010;5:7.
  13. Costa L.E. Hepatic cytochrom p-450 in rats submitted to chronic hypobaric hypoxia. *Am. J. Physiol.* 1987;259(4):654–659.
  14. Craft S., Baker L.D., Montine T.J., Minoshima S., Watson G.S., Claxton A., Arbuclle M., Callaghan M., Tsai E., Plymate S.R., Green P.S., Leverenz J., Cross D., Gerton B. Intranasal insulin therapy for Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment: A pilot clinical trial. *Arch. Neurol.* 2012;69:29–38.
  15. Ferrario C.R., Reagan L.P. Insulin-mediated synaptic plasticity in the CNS: Anatomical, functional and temporal contexts. *Neuropharmacology*. 2018;136(Pt B):182–191. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.12.001.
  16. Garwood C.J., Ratcliffe L.E., Morgan S.V., et al. Insulin and IGF1 signalling pathways in human astrocytes *in vitro* and *in vivo*; characterisation, subcellular localisation and modulation of the receptors. *Mol. Brain.* 2015;8:51.
  17. Grillo C.A., Piroli G.G., Hendry R.M., Reagan L.P. Insulin-stimulated translocation of GLUT4 to the plasma membrane in rat hippocampus is PI3-kinase dependent. *Brain Res.* 2009;1296:35–45.
  18. Jin Z., Jin Y., Kumar-Mendu S., Degerman E., Groop L., Birmir B. Insulin reduces neuronal excitability by turning on GABA(A) channels that generate tonic current. *PLoS One.* 2011;6(1):e16188.
  19. Jones M.L., Leonard J.P. PKC site mutations reveal differential modulation by insulin of NMDA receptors containing NR2A or NR2B subunits. *J. Neurochem.* 2005; 92(6):1431–1438.
  20. Kann O. The interneuron energy hypothesis: Implications for brain disease. *Neurobiol. Dis.* 2016;90:75–85. DOI: 10.1016/j.nbd.2015.08.005.
  21. Knusel B., Michel P.P., Schwaber J.S., Hefti F. Selective and nonselective stimulation of central cholinergic and dopaminergic development *in vitro* by nerve growth factor, basic fibroblast growth factor, epidermal growth factor, insulin and the insulin-like growth factors I and II. *J. Neurosci.* 1990;10(2):558–570.
  22. Komori T., Morikawa Y., Tamura S., Doi A., Nanjo K., Senba E. Subcellular localization of glucose transporter4 in the hypothalamic arcuate nucleus of ob/ob mice under basal conditions. *Brain Res.* 2005;1049(1):34–42.
  23. Kullmann S., Heni M., Hallschmid M., Fritsche A., Preissl H., Häring H.U. Brain insulin resistance at the crossroads of metabolic and cognitive disorders in humans. *Physiol. Rev.* 2016;96(4):1169–1209.
  24. Liao G.Y., Leonard J.P. Insulin modulation of cloned mouse NMDA receptor currents in *Xenopus* oocytes. *J. Neurochem.* 1999;73(4):1510–1519.
  25. Liu L., Brown J.C. 3rd, Webster W.W., Morrisett R.A., Monaghan D.T. Insulin potentiates N-methyl-D-aspartate receptor activity in *Xenopus* oocytes and rat hippocampus. *Neurosci. Lett.* 1995;192(1):5–8.
  26. McNay E.C., Ong C.T., McCrimmon R.J., Cresswell J., Bogan J.S., Sherwin R.S. Hippocampal memory processes are modulated by insulin and high-fat-induced insulin resistance. *Neurobiol. Learn. Mem.* 2010;93(4):546–553.
  27. McNay E.C., Recknagel A.K. Brain insulin signaling: a key component of cognitive processes and a potential basis for cognitive impairment in type 2 diabetes. *Neurobiol. Learn. Mem.* 2011;96(3):432–442.
  28. Moreta M.P., Burgos-Alonso N., Torrecilla M., Marco-Contelles J., Bruzos-Cidón C. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors on cognitive function in Alzheimer's disease. Review of reviews. *Biomedicines.* 2021;9(11):1689.
  29. Mueller E., Cenazanni A. *Central and peripheral endorphins. Basic and clinical aspects.* Raven New York Press, 1984:178.
  30. Patel A. Inhibitors of enkephalin-degrading enzymes as potential therapeutic agents. *Prag. Med. Chem.* 1993;30:327.
  31. Pearson-Leary J., Jahagirdar V., Sage J., McNay E.C. Insulin modulates hippocampally-mediated spatial working memory via glucose transporter-4. *Behav. Brain Res.* 2018;338:32–39.
  32. Pearson-Leary J., McNay E.C. Novel roles for the insulin-regulated glucose transporter-4 in hippocampally dependent memory. *J. Neurosci.* 2016;36(47):11851–11864.
  33. Pomytkin I., Costa-Nunes J.P., Kasatkin V., Veniaminova E., Demchenko A., Lyundup A., Lesch K.P., Ponomarev E.D., Strekalova T. Insulin receptor in the brain: Mechanisms of activation and the role in the CNS pathology and treatment. *CNS Neurosci. Ther.* 2018;24(9):763–774.
  34. Ren Y., Holdengreber V., Ben-Shaul Y., Shah B.H., Varanasi J., Hausman R.E. Causal role for Jun protein in the stimulation of choline acetyltransferase by insulin in embryonic chick retina. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997;232(3):788–793.

35. Rivera E.J., Goldin A., Fulmer N., Tavares R., Wands J.R., de la Monte S.M. Insulin and insulin-like growth factor expression and function deteriorate with progression of Alzheimer's disease: link to brain reductions in acetylcholine. *J. Alzheimers Dis.* 2005;8(3):247–268. DOI: 10.3233/jad-2005-8304.
36. Sawynok J., Pinsky C., Labella F. Minireview of the specificity of naloxone as the opiate antagonist. *Life Sci.* 1979;25:1621–1632.
37. Schliebs R., Arendt T. The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease. *J. Neural. Transm.* 2006;113:1625–1644.
38. Selkoe D.J. Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science.* 2002;298(5594):789–791.
39. Skeberdis V.A., Lan J., Zheng X., Zukin R.S., Bennett M.V. Insulin promotes rapid delivery of N-methyl-D-aspartate receptors to the cell surface by exocytosis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2001;98(6):3561–3566. DOI: 10.1073/pnas.051634698.
40. Stanley M., Macauley S.L., Holtzman D.M. Changes in insulin and insulin signaling in Alzheimer's disease: cause or consequence? *J. Exp. Med.* 2016;213(8):1375–1385.
41. Talbot K., Wang H.Y., Kazi H., Han L.Y., Bakshi K.P., Stucky A., Fuino R.L., Kawaguchi K.R., Samoyedny A.J., Wilson R.S., Arvanitakis Z., Schneider J.A., Wolf B.A., Bennett D.A., Trojanowski J.Q., Arnold S.E. Demon-strated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. *J. Clin. Invest.* 2012;122(4):1316–1338.
42. Wang H., Wang R., Zhao Z., Ji Z., Xu S., Holscher C., Sheng S. Coexistences of insulin signaling-related proteins and choline acetyltransferase in neurons. *Brain Res.* 2009;1249:237–243.
43. Wan Q., Xiong Z.G., Man H.Y., Ackerley C.A., Braunton J., Lu W.Y., Becker L.E., MacDonald J.F., Wang Y.T. Recruitment of functional GABA(A) receptors to postsynaptic domains by insulin. *Nature.* 1997;388(6643):686–690.
44. Wöhr M., Borta A., Schwarting R.K.W. Overt behavior and ultrasonic vocalization in fear conditioning paradigm: A dose-response study in the rat. *Neurobio. Learn. Mem.* 2005;84:228–240.

---

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Каркищенко Владислав Николаевич**, д.м.н., проф., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»;  
**e-mail:** [scbmt@yandex.ru](mailto:scbmt@yandex.ru)

**Фокин Юрий Владимирович\***, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»;  
**e-mail:** [fokin@scbmt.ru](mailto:fokin@scbmt.ru)

**Люблинский Станислав Львович**, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»;  
**e-mail:** [mobitek-m@mail.ru](mailto:mobitek-m@mail.ru)

**Помыткин Игорь Анатольевич**, к.х.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»;  
**e-mail:** [ipomytkin@mail.ru](mailto:ipomytkin@mail.ru)

**Алимкина Оксана Владимировна**, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»;  
**e-mail:** [alimkina@scbmt.ru](mailto:alimkina@scbmt.ru)

**Vladislav N. Karkischenko**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail:** [scbmt@yandex.ru](mailto:scbmt@yandex.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](mailto:fokin@scbmt.ru)

**Stanislav L. Lyublinskiy**, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail:** [mobitek-m@mail.ru](mailto:mobitek-m@mail.ru)

**Igor A. Pomytkin**, Cand. Sci. (Chem.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail:** [ipomytkin@mail.ru](mailto:ipomytkin@mail.ru)

**Oksana V. Alimkina**, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail:** [alimkina@scbmt.ru](mailto:alimkina@scbmt.ru)

**Табоякова Лидия Александровна**, ФГБУН  
«Научный центр биомедицинских технологий  
Федерального медико-биологического агентства»;  
**e-mail: [lida-vet@mail.ru](mailto:lida-vet@mail.ru)**

**Капцов Александр Владимирович**, ФГБУН  
«Научный центр биомедицинских технологий  
Федерального медико-биологического агентства»;  
**e-mail: [a\\_v\\_kaptsov@mail.ru](mailto:a_v_kaptsov@mail.ru)**

**Борисова Мария Михайловна**, ФГБУН  
«Научный центр биомедицинских технологий  
Федерального медико-биологического агентства»;  
**e-mail: [borisova\\_mm@mail.ru](mailto:borisova_mm@mail.ru)**

**Каркищенко Николай Николаевич**, д.м.н.,  
проф., акад. РАН, чл.-корр. РАН, ФГБУН  
«Научный центр биомедицинских технологий  
Федерального медико-биологического агентства»;  
**e-mail: [niknik2808@yandex.ru](mailto:niknik2808@yandex.ru)**

**Lidiya A. Taboyakova**, Scientific Center of Biome-  
dical Technologies of the Federal Medical and  
Biological Agency of Russia;  
**e-mail: [lida-vet@mail.ru](mailto:lida-vet@mail.ru)**

**Alexander V. Kaptsov**, Scientific Center of Biome-  
dical Technologies of the Federal Medical and  
Biological Agency of Russia;  
**e-mail: [a\\_v\\_kaptsov@mail.ru](mailto:a_v_kaptsov@mail.ru)**

**Mariya M. Borisova**, Scientific Center of Biome-  
dical Technologies of the Federal Medical and  
Biological Agency of Russia;  
**e-mail: [borisova\\_mm@mail.ru](mailto:borisova_mm@mail.ru)**

**Nikolay N. Karkischenko**, Dr. Sci. (Med.), Prof.,  
Academician of the Russian Academy of Rocket  
and Artillery Sciences, Corresponding Member  
of the Russian Academy of Sciences, Scientific  
Center of Biomedical Technologies of the Federal  
Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail: [niknik2808@yandex.ru](mailto:niknik2808@yandex.ru)**

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



## МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НЕЙРОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКТОВ СУХИХ *RHAPONTICUM UNIFLORUM* И *SERRATULA CENTAUROIDES* ПРИ ГИПОКСИИ/РЕОКСИГЕНАЦИИ

К.В. Маркова<sup>1,2,\*</sup>, Я.Г. Разуваева<sup>1</sup>, А.А. Торопова<sup>1</sup>, Д.Н. Оленников<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН  
670047, Российская Федерация, Республика Бурятия, Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 8

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет им. Доржи Банзарова»  
670000, Российская Федерация, Республика Бурятия, Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а

Целью исследования явилась морфологическая оценка нейропротективного действия экстрактов сухих *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. и *Serratula centauroides* L. при гипобарической гипоксии/реоксигенации. Исследования проведены на 32 сертифицированных белых крысах-самцах Wistar после перенесённой ими 30-минутной гипобарической гипоксии и трёхчасовой реоксигенации. Экстракты сухие *R. uniflorum* и *S. centauroides* в дозе 100 мг/кг вводили животным в течение 14-ти дней до воспроизведения гипобарической гипоксии. Для морфологических исследований готовили гистологические препараты головного мозга, окрашенные по Нисслю. Во II–V слоях коры больших полушарий оценивали степень поражения нейронов путём подсчёта четырёх категорий клеток – нормохромных, резко гипохромных, резко гиперхромных (пикнотических) и «клеток-теней». Установлено, что курсовое введение животным экстрактов сухих *R. uniflorum* и *S. centauroides* ограничивало на фоне гипоксии/реоксигенации образование в коре больших полушарий белых крыс пикнотических нейронов на 36 и 45%, резко гипохромных нейронов – в 10,5 и 7,0 раза ( $p < 0,05$ ) и «клеток-теней» – в 2,4 и 1,8 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Таким образом, экстракты сухие, полученные из листьев *R. uniflorum* и *S. centauroides*, оказывают нейропротективное действие при гипоксии/реоксигенации.

**Ключевые слова:** *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC., *Serratula centauroides* L., нейропротективное действие, белые крысы, гипоксия/реоксигенация, головной мозг

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Источник финансирования:** исследования проведены в рамках выполнения темы государственного задания № 121030100227-7.

**Для цитирования:** Маркова К.В., Разуваева Я.Г., Торопова А.А., Оленников Д.Н. Морфологическая оценка нейропротективного действия экстрактов сухих *Rhaponticum uniflorum* и *Serratula centauroides* при гипоксии/реоксигенации. *Биомедицина*. 2022;18(1):56–62. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-1-56-62>

Поступила 13.06.2021

Принята после доработки 25.07.2021

Опубликована 10.03.2022

## MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF *RHAPONTICUM UNIFLORUM* AND *SERRATULA CENTAUROIDES* DRY EXTRACTS IN HYPOXIA/REOXIGENATION

Kristina V. Markova<sup>1,2,\*</sup>, Yanina G. Razuvaeva<sup>1</sup>, Anyuta A. Toropova<sup>1</sup>, Daniil N. Olennikov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of General and Experimental Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences  
670047, Russian Federation, Buryatiya Republic, Ulan-Ude, Sakhyanova Str., 8

<sup>2</sup> Banzarov Buryat State University  
670000, Russian Federation, Buryatiya Republic, Ulan-Ude, Smolina Str., 24a

This article presents a morphological assessment of the neuroprotective activity of dry extracts from *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. and *Serratula centauroides* L. in hypobaric hypoxia/reoxygenation. Experiments were carried out on 32 male Wistar rats. The animals in the experimental groups received *R. uniflorum* and *S. centauroides* dry extracts at a dose of 100 mg/kg for 14 days, with the last dose administered 30 minutes before inducing hypoxia. The animals in the intact and control groups received purified water according to an analogous scheme. On the 14th day of the experiment, the animals in the control and experimental groups were exposed to acute hypobaric hypoxia followed by 3-hour reoxygenation. Acute hypobaric hypoxia was simulated by elevating laboratory animals to a height of 9000 m at a rate of 50 m/sec using altitude test facilities. The animals were kept under these conditions for 30 min followed by 3-hour reoxygenation. Brain histological preparations were prepared by Nissl staining. The degree of neuronal damage was assessed by counting four categories of cells: normochromic, sharply hypochromic, sharply hyperchromic (pyknotic) and shadow cells in the cerebral cortex II–V layers. It was found that *R. uniflorum* and *S. centauroides* dry extracts limited the formation of pycnotic neurons by 36 and 45%, sharply hypochromic neurons by 10.5 and 7.0 times ( $p < 0.05$ ) and shadow cells by 2.4 and 1.8 times ( $p < 0.05$ ) in the cerebral cortex under the action of hypoxia/reoxygenation. Therefore, dry extracts obtained from *R. uniflorum* and *S. centauroides* leaves exhibit a neuroprotective activity under the conditions of hypoxia/reoxygenation.

**Keywords:** *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC., *Serratula centauroides* L., neuroprotective effect, white rats, hypoxia/reoxygenation, brain

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

**Funding:** the studies were carried out in the course of the project No. 121030100227-7.F

**For citation:** Markova K.V., Razuvaeva Ya.G., Toropova A.A., Olennikov D.N. Morphological Assessment of Neuroprotective Effects of *Rhaponticum uniflorum* and *Serratula centauroides* Dry Extracts in Hypoxia/Reoxygenation. *Journal Biomed.* 2022;18(1):56–62. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-1-56-62>

Submitted 13.06.2021

Revised 25.07.2021

Published 10.03.2022

## Введение

Длительное влияние гипоксических состояний на нервную систему приводит к повышенной стимуляции нервных клеток, последующему изменению их структуры и функции, в результате чего развиваются неврологические заболевания [1]. Лечение заболеваний нервной системы и восстановительный период в тяжёлых случаях требуют большого количества времени, а также длительного приёма лекарственных препаратов, что может привести к появлению побочных эффектов и развитию токсических реакций. В связи с этим перспективным в профилактике и лечении заболеваний нервной системы является

применение лекарственных средств растительного происхождения, которые в меньшей степени при длительном применении вызывают возникновение нежелательных реакций [7].

Особый интерес представляют многолетние растения семейства Asteraceae — *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. и *Serratula centauroides* L., — обладающие высоким содержанием экидистероидов [2]. Данные виды произрастают на территории России (Сибирь и Дальний Восток) и Северной Монголии и широко применяются в традиционной тибетской, китайской и монгольской медицине как лекарственные средства, способствующие повышению устойчиво-

сти человека к психическим и физическим нагрузкам [6]. Согласно ранее проведённым экспериментальным исследованиям, экстракты сухие надземной части *R. uniflorum* и *S. centauroides* повышают устойчивость организма к действию интенсивных физических нагрузок и к кислороддефицитным состояниям различного генеза. Указанные экстракты повышают ориентировочно-исследовательскую активность, снижают уровень тревожности и эмоциональности животных, а также стимулируют когнитивные функции животных [4, 5].

**Цель исследования** — морфологическая оценка нейтропротективного действия экстрактов сухих, полученных из листьев *R. uniflorum* и *S. centauroides*, на фоне гипобарической гипоксии/реоксигенации.

### Материалы и методы

Экстракты сухие получали из высушенного растительного сырья, собранного в Республике Бурятия, — листьев *R. uniflorum* (фаза бутонизации, Селенгинский район, 2019 г.) и листьев *S. centauroides* (фаза бутонизации, Иволгинский район, 2019 г.). Высушенное и измельченное растительное сырьё экстрагировали дважды 60%-м этанолом в ультразвуковой ванне при 45°C в течение 60 мин, после чего спиртовой экстракт концентрировали в вакууме досуха и измельчали. Для осуществления количественной стандартизации экстрактов сухих применяли метод высокоэффективной хроматографии с ультрафиолетовым (УФ) детектированием, с помощью которого определяли содержание 20-гидроксиэкдизона [14, 15]. Содержание 20-гидроксиэкдизона в изучаемых средствах составило не менее 3% в экстракте сухом *R. uniflorum* и не менее 2% в экстракте сухом *S. centauroides*. Принимая во внимание, что наиболее выраженное антигипоксическое влияние испытываемые фитоэкстракты проявляют в дозах

100 и 200 мг/кг [3–5, 13], в данной работе их вводили животным в наименьшей эффективной дозе — 100 мг/кг.

Исследования выполнены на 32 сертифицированных белых крысах-самцах Wistar исходной массой 160–180 г, полученных из филиала «Столовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Содержание животных соответствовало «Правилам лабораторной практики» (GLP) и Приказу Минздрава России № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Крысы содержались в одинаковых условиях, по 10 особей в клетке, со свободным доступом к пище и воде. Перед началом экспериментов животных, отвечающих критериям включения в эксперимент, распределяли на группы с учетом принципа рандомизации. Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 1986 г.). Протокол исследования согласован с этическим комитетом ИОЭБ СО РАН.

Животные были разделены на четыре группы: интактная, контрольная и две опытных. Животным опытной группы I внутрижелудочно вводили экстракт сухой *R. uniflorum*, опытной группы II — экстракт сухой *S. centauroides*. Исследуемые средства в дозе 100 мг/кг вводили животным в течение 14-ти дней, последнее введение осуществляли за 30 мин до воспроизведения гипобарической гипоксии. Животные интактной и контрольной групп получали воду, очищенную по аналогичной схеме. На 14-е сут эксперимента животных контрольной и опытных групп подвергали острой гипобарической гипоксии с последующей трёхчасовой реоксигенацией. Острую гипобарическую гипоксию моделировали путём «подъема» лабораторных животных в барокамерной установке на «высоту» 9000 м со средней скоростью 50 м/с и находже-



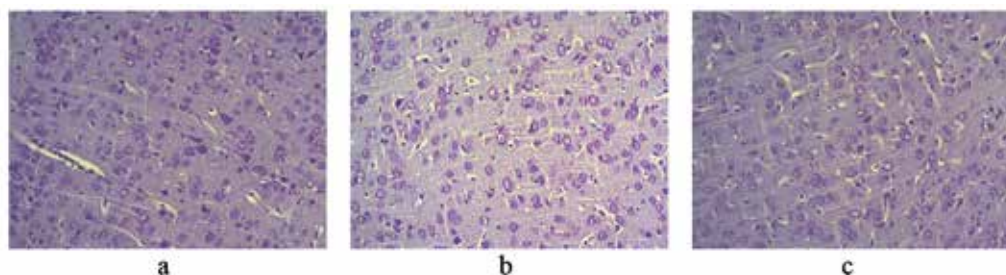
ния их в этих условиях в течение 30 мин. Через 3 ч после восстановления исходного режима кислородного обеспечения крыс декапитировали под эфирным наркозом.

Материалом для исследования служила кора больших полушарий головного мозга. Гистологические срезы, приготовленные по стандартной методике, окрашивали крезилвиолетом по Нисслию. Морфологические и морфометрические исследования коры больших полушарий головного мозга проводили с помощью микроскопа «Axio LAB.A1» с цифровой камерой «AxioCam ERc5s» с программным обеспечением для анализа изображений Axio Vision SE64 Rel.4.8.3 и ZEN 2012. Во II–V слоях коры больших полушарий оценивали степень поражения нейронов путём подсчёта процентного содержания нейронов, которые дифференцировали на четыре категории – нормохромные, резко гипохромные, резко гиперхромные (пикнотические) и «клетки-тени».

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета программ Statistica for Windows 6.0. Статистические различия оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты и их обсуждение

Результаты морфологических исследований показали, что на фоне гипоксии/реоксигенации в коре больших полушарий развиваются структурные изменения, характеризующиеся увеличением количества резко гиперхромных пикнотических нейронов (в 5,5 раза), а также нейронов с тотальным лизисом тигроидного вещества (в 3,5 раза) по сравнению с данными животных интактной группы. В отличие от последних, в «клетках-тенях», число которых у животных контрольной группы повысилось относительно интактного показателя в 9,0 раз, на фоне бледно окрашенной гомогенной цитоплазмы ядерные компоненты (мембрана, ядрышко, хроматин) не контурировались. Тела пикнотических нейронов были уменьшены в размерах, а апикальный истонченный дендрит прослеживался на длительном расстоянии (рис. а). Пикнотические нейроны отмечались в большинстве случаев в III и V слоях коры, тогда как «клетки-тени» — диффузно во всех слоях. Явления нейронофагии и сателлитоза отмечались единично, что сопоставимо с интактом. Определялся периваскулярный и перицеллюлярный отёк. В ядрах нормохромных нейронов отмечалось снижение количества ядрышек и увеличение объема гетерохроматина.



**Рис.** Кора больших полушарий белых крыс при гипобарической гипоксии/реоксигенации. Окраска крезилвиолетом по Нисслию. Ув.  $\times 200$ .

**Примечание:** а – животное контрольной группы; б – животное, получавшее экстракт сухой *R. uniflorum*; с – животное, получавшее экстракт сухой *S. centauroides*.

**Fig.** The white rat cerebral cortex under hypobaric hypoxia/reoxygenation. Nissl staining with cresyl violet. Magn.  $\times 200$ .  
**Note:** a – a control animal; b – an animal having received *R. uniflorum* dry extract; c – an animal having received *S. centauroides* dry extract.

**Таблица.** Влияние экстрактов сухих *Rhaponticum uniflorum* и *Serratula centauroides* на морфометрические показатели коры больших полушарий белых крыс при гипобарической гипоксии/реоксигенации

**Table.** Effects of *Rhaponticum uniflorum* and *Serratula centauroides* dry extracts on the morphometric parameters of the white rat cerebral cortex under hypobaric hypoxia/reoxygenation

Тип клеток, %	Группы животных			
	Интактная (Н <sub>2</sub> О дист.)	Контрольная (ГГ/Р + Н <sub>2</sub> О дист.)	Опытная I (ГГ/Р + экстракт <i>R. uniflorum</i> )	Опытная II (ГГ/Р + экстракт <i>S. centauroides</i> )
Нормохромные	96,1±0,42	86,9±1,05*	94,9±0,36**	93,7±0,42**
Резко гипохромные	0,6±0,08	2,1±0,46*	0,2±0,11**	0,3±0,10**
Резко гиперхромные	0,2±0,01	1,1±0,35*	0,7±0,23	0,6±0,19
«Клетки-тени»	1,1±0,09	9,9±0,76*	4,2±0,21**	5,4±0,41**

**Примечание:** ГГ/Р – гипобарическая гипоксия/реоксигенация; \* – различия статистически значимы между интактной и контрольной группами при  $p < 0,05$ ; \*\* – различия статистически значимы между контрольной и опытной группами при  $p < 0,05$ .

**Note:** ГГ/Р – hypobaric hypoxia/reoxygenation; \* – differences between the control and intact groups are significant at  $p < 0.05$ ; \*\* – differences between the control and experimental groups are significant at  $p < 0.05$ .

На фоне введения животным экстрактов *R. uniflorum* и *S. centauroides* в коре больших полушарий наблюдались менее выраженные структурные изменения по сравнению с контролем (рис. b, c): количество пикнотических нейронов было ниже на 36 и 45%, резко гипохромных нейронов — в 10,5 и 7,0 раз, «клеток-теней» — в 2,4 и 1,8 раза соответственно (табл.). Среди нормохромных нейронов отмечались нейроны с умеренным периферическим гипо- и гиперхроматозом, что свидетельствует об их функциональной активности. На микропрепаратах животных опытных групп «клетки-тени» встречались в поле зрения единично, и, как следствие, «места опустошений» при малом увеличении не отмечались. Периваскулярный и перичеселлюлярный отёки были менее выражены по сравнению с контролем.

Ограничение образования у животных опытных групп регрессивных форм нейронов свидетельствует о повышении устойчивости тканей головного мозга к гипоксии на фоне применения исследуемых экстрактов, что обусловлено содержанием в *R. uniflorum* и *S. centauroides* широкого спектра биологически активных веществ: экистероидов, флавоноидов, терпеноидов, фенольных и органических кислот и т. д.

Экспериментальные исследования показывают выраженное нейропротективное влияние фитоэкистероидов при токсических, дегенеративных и сосудистых повреждениях нервной системы [8, 9]. Существенный вклад в проявление нейропротективной активности вносят флавоноиды, терпеноиды и фенолкарбоновые кислоты, обладающие антиоксидантной активностью, препятствующие генерации и повреждающему действию активных форм кислорода и тем самым повышающие эффективность сопряжения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования [7, 11, 12, 18]. Кроме того, многочисленные исследования показывают, что лекарственные растения и их соединения оказывают нейропротекторное влияние за счёт регулирования белков, связанных с антиапоптозной и противовоспалительной активностью [10, 16, 17].

Таким образом, исследуемые средства — экстракты сухие *R. uniflorum* и *S. centauroides* — в экспериментально-терапевтической дозе 100 мг/кг оказывают выраженное нейропротективное действие на фоне гипобарической гипоксии/реоксигенации, ограничивая образование дистрофически изменённых и регрессивных форм нейронов в коре больших полушарий белых крыс.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Грачёв В.И., Маринкин И.О., Севрюков И.Т. Влияние гипоксии на центральную нервную систему, органы и ткани с учетом возрастных особенностей. *Norwegian Journal of Development of the International Science*. 2018;19:3–20. [Grachev V.I., Marinkin I.O., Sevryukov I.T. Vliyaniye gipoksii na central'nyuyu nervnyuyu sistemuyu, organy i tkany s uchetom vuzrastnykh osobennostey [The influence of hypoxia on the central nervous system, organs and tissues, taking into account age characteristics]. *Norwegian Journal of Development of the International Science*. 2018;19:3–20. (In Russian)].
2. Николаева И.Г., Цыбиктарова Л.П., Гармаева Л.Л., Николаева Г.Г., Оленников Д.Н., Матханов И.Э. Определение содержания эцистероидов в сырье *Rhaponticum uniflorum* и *Serratula centauroides* методом хроматоспектрофотометрии. *Журнал аналитической химии*. 2017;72(8):733–741. [Nikolaeva I.G., Tsybiktaro-va L.P., Garmayeva L.L., Nikolaeva G.G., Olennikov D.N., Mathanov I.E. Opredeleniye sodержaniya ecdysteroidov v syr'e *Rhaponticum uniflorum* i *Serratula centauroides* metodom chromatospetrofotometrii [Determination of ecdysteroids in *Rhaponticum uniflorum* and *Serratula centauroides* raw materials by chromatography–UV spectrophotometry]. *Journal of Analytical Chemistry*. 2017;72(8):733–741. (In Russian)]. DOI: 10.7868/S0044450217080047.
3. Разуваева Я.Г., Маркова К.В., Торопова А.А., Оленников Д.Н. Влияние экстракта сухого *Rhaponticum uniflorum* на поведение белых крыс в тестах с положительным подкреплением. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2020;23(11):28–33. [Razuvaeva Ya.G., Markova K.V., Toropova A.A., Olennikov D.N. Vliyaniye ekstrakta sukhogo *Rhaponticum uniflorum* na povedeniye belykh krysov v testakh s pozitivnym podkrepleniyem [Influence of the *Rhaponticum uniflorum* dry extract on the behavior of white rats in positive supported tests]. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii* [Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry]. 2020;23(11):28–33. (In Russian)]. DOI: 10.29296/25877313-2020-11-00 02.07.
4. Свиридов И.В. *Адаптогенные свойства экстракта сухого *Serratula centauroides* L.* Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Улан-Удэ, 2016:22. [Sviridov I.V. *Adaptogennyye svoystva ekstrakta sukhogo *Serratula centauroides* L.* [Adaptogenic properties of dry extract of *Serratula centauroides* L]. Abstract of dis. ... Cand. Sci. (Med.). Ulan-Ude, 2016:22. (In Russian)].
5. Татаринова Н.К. *Адаптогенные свойства экстрактов *Fornicium uniflorum* L.* Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Улан-Удэ, 2017:20. [Tatarinova N.K. *Adaptogennyye svoystva ekstraktoy Fornicium uniflorum* L. [Adaptogenic properties of extracts of *Fornicium uniflorum* L.]. Abstract of dis. ... Cand. Sci. (Med.). Ulan-Ude, 2017:20. (In Russian)].
6. Шантанова Л.Н., Дашиев Д.Б., Раднаева Д.Б., Петрова Т.Г. Адаптогены в тибетской медицине. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2008;3:175. [Shantanova L.N., Dashiev D.B., Radnaeva D.B., Petrova T.G. Adaptogeny v tibetskoy medicine [Adaptogens in Tibetan medicine]. *Bjulleten' VSNC SO RAMN* [Bulletin of the East Siberian Scientific Center of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Science]. 2008;3:175. (In Russian)].
7. Amirzargar N., Heidari-Soureshjani S., Yang Q., Abbaszadeh S., Khaksarian M. Neuroprotective effects of medicinal plants in cerebral hypoxia and anoxia: a systematic review. *Nat. Prod. J.* 2020;10(5):550–565. DOI: 10.2174/2210315509666190820103658.
8. Bajguz A., Bařkala I., Talarek M. Chapter 5 — ecdysteroids in plants and their pharmacological effects in vertebrates and humans. *Stud. Nat. Prod. Chem.* 2015;45:121–145. DOI: 10.1016/B978-0-444-63473-3.00005-8.
9. Cahlikova L., Macakova K., Chlebek J., Host'alková A., Kulhánková A., Opletal L. Ecdysterone and its activity on some degenerative diseases. *Nat. Prod. Commun.* 2011;6(5):707–718. DOI: 10.1177/1934578X1100600527.
10. Cui H.Y., Zhang X.J., Yang Y., Zhang C., Zhu C.H., Miao J.Y., Chen R. Rosmarinic acid elicits neuroprotection in ischemic stroke via Nrf2 and heme oxygenase 1 signaling. *Neural Regen. Res.* 2018;13(12):2119–2128. DOI: 10.4103/1673-5374.241463.
11. Kashyap D., Tuli H.S., Sharma A.K. Ursolic acid (UA): a metabolite with promising therapeutic potential. *Life Sci.* 2016;146:201–213. DOI: 10.1016/j.lfs.2016.01.017.
12. Nabavi S.F., Braidyn N., Gortzi O., Sobarzo-Sanchez E., Daglia M., Skalicka-Woźniak K., Nabavi S.M. Luteolin as an anti-inflammatory and neuroprotective agent: a brief review. *Brain Res. Bull.* 2015;119(A):1–11. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2015.09.002.
13. Nikolaev S.M., Nikolaeva I.G., Razuvaeva Y.G., Matkhanov I.E., Shantanova L.N., Nikolaeva G.G., Tsybiktarova L.P. Phenolic compounds of *Serratula centauroides* and anxiolytic effect. *Farmacia*. 2019;67(3):504–510. DOI: 10.31925/farmacia.2019.3.19.
14. Olennikov D.N. Minor ecdysteroids from *Rhaponticum uniflorum* leaves from Eastern Siberia. *Chem. Nat. Compd.* 2018;54(4):798–800. DOI: 10.1007/s10600-018-2480-2.
15. Olennikov D.N., Kashchenko N.I. Phytoecdysteroids of *Serratula centauroides* herb from Cisbaikalia. *Russ. J. Bioorganic Chem.* 2019;45:69–75. DOI: 10.1134/S1068162019070094.
16. Qiao H., Zhang X., Zhu C., Dong L., Cao X. Luteolin downregulates TLR4, TLR5, NF-κB and p-p38MAPK expression, upregulates the p-ERK expression,

- and protects rat brains against focal ischemia. *Brain Res.* 2012;1448:71–81. DOI: 10.1016/j.brainres.2012.02.003.
17. Szwajgier D., Borowiec K., Pustelniak K. The neuroprotective effects of phenolic acids: Molecular mechanism of action. *Nutrients.* 2017;9(5):477. DOI: 10.3390/nu9050477.
18. Tu F., Pang Q., Huang T., Zhao Y., Liu M., Chen X. Apigenin ameliorates post-stroke cognitive deficits in rats through histone acetylation-mediated neurochemical alterations. *Med. Sci. Monit.* 2017;23:4004–4013. DOI: 10.12659/msm.902770.

---

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Маркова Кристина Владимировна\***, ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН; ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова»;  
**e-mail: [kristen\\_kartland@mail.ru](mailto:kristen_kartland@mail.ru)**

**Разуваева Янина Геннадьевна**, д.б.н., ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН;  
**e-mail: [tatur75@mail.ru](mailto:tatur75@mail.ru)**

**Торопова Анюта Алексеевна**, к.б.н., ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН;  
**e-mail: [anyuta-tor@mail.ru](mailto:anyuta-tor@mail.ru)**

**Оленников Даниил Николаевич**, д.фарм.н., ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН;  
**e-mail: [olennikovdn@mail.ru](mailto:olennikovdn@mail.ru)**

**Kristina V. Markova\***, Institute of General and Experimental Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Banzarov Buryat State University;  
**e-mail: [kristen\\_kartland@mail.ru](mailto:kristen_kartland@mail.ru)**

**Yanina G. Razuvaeva**, Dr. Sci. (Biol.), Institute of General and Experimental Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences;  
**e-mail: [tatur75@mail.ru](mailto:tatur75@mail.ru)**

**Anyuta A. Toropova**, Cand. Sci. (Biol.), Institute of General and Experimental Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences;  
**e-mail: [anyuta-tor@mail.ru](mailto:anyuta-tor@mail.ru)**

**Daniil N. Olennikov**, Dr. Sci. (Pharm.), Institute of General and Experimental Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences;  
**e-mail: [olennikovdn@mail.ru](mailto:olennikovdn@mail.ru)**

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-1-63-66>



## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА ЭПОФЕН ГРУППЫ АНТИГИПОКСАНТОВ

К.С. Остренко<sup>1,\*</sup>, А.Н. Овчарова<sup>1</sup>, О.П. Егорова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»  
249013, Российская Федерация, Калужская обл., Боровск, п. Институт*

<sup>2</sup> *ООО Научно-производственная компания «ИГЛЕССИЯ»  
115516, Российская Федерация, Москва, ул. Бакинская, 18*

Дефицит энергии, лежащий в основе любой формы гипоксии, приводит к качественно однотипным метаболическим и структурным сдвигам в различных органах и тканях. Антигипоксанты способны предотвратить, уменьшить или ликвидировать проявления гипоксии благодаря поддержанию энергетического обмена в режиме, достаточном для сохранения структуры и функциональной активности клетки хотя бы на уровне допустимого минимума. Целью исследования было определение параметров острой токсичности препарата антигипоксантного ряда Эпофен. Исследование было проведено на самках мышей линии Balb/c массой тела  $19 \pm 2$  г. В ходе исследования было установлено, что изучаемый препарат относится к четвертому классу опасности в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76.

**Ключевые слова:** гипоксия, антигипоксанты, коэнзим Q, Эпофен, острая токсичность, ЛД50

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Остренко К.С., Овчарова А.Н., Егорова О.П. Определение параметров острой токсичности препарата Эпофен группы антигипоксантов. *Биомедицина*. 2022;18(1):63–66. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-1-63-66>

Поступила 28.03.2021

Принята после доработки 28.05.2021

Опубликована 10.03.2022

## DETERMINATION OF THE PARAMETERS THE OF ACUTE TOXICITY OF THE EPOPHEN ANTIHYPOXANT DRUG ON LABORATORY ANIMALS

Konstantin S. Ostrenko<sup>1,\*</sup>, Anastasia N. Ovcharova<sup>1</sup>, Olga P. Egorova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *The All-Russian Research Institute of Animal Physiology, Biochemistry and Nutrition — the Branch of the Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst  
249013, Russian Federation, Kaluga Region, Borovsk, Institute Village*

<sup>2</sup> *Scientific and Production Company "Iglesia"  
115516, Russian Federation, Moscow, Bakinskaya Str., 18*

The energy deficit underlying any form of hypoxia leads to qualitatively similar metabolic and structural changes in various organs and tissues. Antihypoxants are capable of preventing, reducing or eliminating the manifestations of hypoxia by maintaining energy metabolism in a mode sufficient for preserving the structure and functional activity of cells at least at an acceptable minimum level. This study aims to determine the acute toxicity of a new antihypoxant drug, Epophen. The study was conducted on female BALB/C mice with a body weight of  $19 \pm 2$  g. It was found that the studied drug belongs to the 4th class of moderately toxic substances in accordance with GOST 12.1.007-76.

**Keywords:** hypoxia, antihypoxants, coenzyme Q, Epophene, acute toxicity, LD50

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

**For citation:** Ostrenko K.S., Ovcharova A.N., Egorova O.P. Determination of the Parameters of Acute Toxicity of the Epophen Antihypoxant Drug on Laboratory Animals. *Journal Biomed.* 2022;18(1):63–66. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-1-63-66>

Submitted 28.03.2021

Revised 28.05.2021

Published 10.03.2022

## Введение

Гипоксические состояния различной этиологии являются серьёзными патофизиологическими состояниями, препятствующими полноценному лечению и применению стандартных схем лечения. Дефицит энергии, лежащий в основе любой формы гипоксии, приводит к качественно-однотипным метаболическим и структурным изменениям [3, 4]. Одним из препаратов, повышающих устойчивость к гипоксиям различной этиологии, является Эпофен, относящийся по классификации к естественным компонентам дыхательной цепи. Являясь синтетическим аналогом кофермента Q и принимая непосредственное участие в окислительном фосфорилировании, Эпофен является звеном цепи переноса электронов в митохондриях и принимает участие в восстановлении антиоксидантной активности витамина E [2, 6]. Кофермент Q участвует в переносе электронов с NADH-дегидрогеназного и сукцинатдегидрогеназного комплексов на комплекс убихинол—цитохром-оксидоредуктазы, непосредственно участвуя в синтезе аденозинтрифосфата [5]. Применение Эпофена позволяет восстанавливать процесс генерации макроэргических молекул, нарушенный или прерванный теми или иными патологическими процессами.

**Целью** данного исследования было определение параметров острой токсичности препарата Эпофен.

## Материалы и методы

В экспериментах были использованы самки мышей линии Balb/c массой тела  $19 \pm 2$  г;

по 10 животных в группе. Источник получения животных — филиал «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Для оценки острой токсичности препарат растворяли в дистиллированной воде, вводили внутривентрикулярно с помощью металлического атравматического зонда 18 G в объёме 0,5 мл. Внутривентрикулярно препарат вводили с помощью инсулинового шприца в объёме 1 мл. Длительность периода наблюдения после введения препарата составила 2 недели, в течение которых осуществляли учёт погибших и выживших животных. Диапазон исследуемых доз: 200–300–400–500–600–800–1000–1200–1500–2100 мг/кг. Через 14 сут после начала исследования все животные были выведены из опыта методом декапитации. В пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) была взята кровь для гематологического исследования. Гематологические исследования были проведены на автоматическом гематологическом анализаторе BC-2800 Vet («Mindray», Китай). Определение параметров острой токсичности проводили методом пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксоу; расчёт полуметальной дозы (LD50) проводили по методу Кербера; среднеарифметическую ошибку рассчитывали по формуле Геддема и соавт. [1].

## Результаты исследований

*Изучение острой токсичности препарата Эпофен при внутривентрикулярном введении*

У мышей, получивших дозу препарата Эпофен 800–1200 мг/кг, смертность составила 100% в течение 30 мин. У животных, получивших более высокие дозы, в первые



секунды наблюдались повышенная двигательная активность и агрессия с последующим наступлением судорог, длящихся от 5 мин и до получаса, смерть части животных в группе. После введения в дозах 300–600 мг/кг картина токсического отравления наступала у животных сразу после введения. Резко снижалась двигательная активность, наблюдалось учащение дыхания и сердцебиения, взъерошивалась шерсть. Животные, получившие дозы препарата 500–600 мг/кг и не погибшие в первые 30 мин, были неподвижны, взъерошены, отмечались отказ от еды и воды, цианоз кожи и слизистых оболочек. У животных, получивших дозу препарата 200–400 мг/кг, наблюдалось угнетённое состояние, отказ от еды, учащённое дыхание и сердцебиение; через 48 ч у этих животных отмечалось некоторое улучшение общего состояния, появлялся аппетит, но шёрстный покров оставался взъерошенным. Через 72 ч и в течение следующих 10 сут животные выглядели клинически здоровыми, проявляли нормальную двигательную активность, аппетит. Мыши, получившие дозу 100 мг/кг, не отличались от контрольных животных, у них были сохранены аппетит, двигательная активность, шёрстный покров оставался гладким.

По данным вскрытия и макроскопического исследования внутренних органов павших животных отмечено увеличение размера печени и селезёнки относительно контрольных животных. При внешнем осмотре шерсть была тусклой, взъерошенной, неопрятного вида. Видимые слизистые оболочки были бледными, гладкими. Выделения из естественных отверстий отсутствовали.

ЛД<sub>84</sub> и ЛД<sub>16</sub>, определённые методом пробит-анализа, составили 220 и 490 мг/кг живой массы тела соответственно. Средняя ошибка средней дозы эффекта, вычисленная по формуле:  $MEd50 = K \times E \times d / 10$  (где  $K$  — постоянный множитель = 0,66;  $E$  — основное отклонение, определяемое

как полуразность  $1/2 \times (LD_{84} - LD_{16})$ ;  $d$  — интервал между дозами), — составила 32,5. ЛД<sub>50</sub>, рассчитанная по методу Кербера, составила 350 мг/кг.

#### *Изучение острой токсичности препарата Эпофен при внутрижелудочном введении*

После введения Эпофена у животных, получавших дозы препарата 1000–1500 мг/кг, через 5 мин после введения были зафиксированы конвульсии, продолжавшиеся в течение 5–30 мин до момента наступления смерти части мышей. У мышей, получивших дозы препарата 500–800 мг/кг, через несколько минут после введения развивалось сильно угнетённое состояние, мыши сжимались в комок, шёрстный покров был взъерошен, отмечалось учащение дыхания и сердцебиения, в течение суток отмечалась гибель части животных. У животных, получивших дозы 200–400 мг/кг, снизилась двигательная активность в первые 12 ч после введения. По данным вскрытия, проведённого сразу после смерти животных, и макроскопического исследования внутренних органов, различий между животными, получившими различные дозы препарата, не установлено, кроме увеличения печени.

ЛД<sub>84</sub> и ЛД<sub>16</sub>, определённые методом пробит-анализа, составили 500 и 890 мг/кг живой массы тела соответственно. Средняя ошибка составила 32,5. ЛД<sub>50</sub> составила 690 мг/кг.

Через 14 дней после окончания эксперимента все животные были выведены из эксперимента методом декапитации; в пробирки с ЭДТА была взята кровь для гематологического исследования. Все показатели были в пределах физиологической нормы.

## **Выводы**

В ходе исследования было установлено, что изучаемый препарат относится к 4-му классу умеренно токсических веществ в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 «Классификация



и общие требования безопасности». Так, ЛД<sub>50</sub> при внутрижелудочном введении составила 690 мг/кг живой массы тела. При внутрибрюшинном введении ЛД<sub>50</sub> составила 350 мг/кг живой массы тела. Исследование

гематологических показателей не выявило существенных отклонений. Таким образом, изучаемый препарат Эпофен с учётом его малотоксичности может эффективно применяться как антигипоксикант.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

---

1. Бельский М.Л. *Элементы количественной оценки фармакологического эффекта*. Л.: Госмедиздат. 1963:152. [Belen'kij M.L. *Elementy kolichestvennoj ocenki farmakologicheskogo effekta* [Elements of quantitative assessment of pharmacological effect]. Leningrad: Gosmedizdat Publ., 1963:152. (In Russian)].
2. Карпова О.А., Михина Л.В., Денисов А.А., Кузьмич М.К. Изучение антимуtagenной активности гипоксена *in vivo*. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2002;65(3):54–56. [Karpova O.A., Mikhina L.V., Denisov A.A., Kuz'mich M.K. Izuchenie antimutagennoj aktivnosti gipoksena *in vivo* [Study of the antimutagenic activity of hypoxen *in vivo*]. *Éksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya* [Experimental and Clinical Pharmacology]. 2002;65(3):54–56. (In Russian)].
3. Devun F., Walter L., Belliere J., Cottet-Rousselle C., Lerverve X., Fontaine E. Ubiquinone analogs: a mitochondrial permeability transition pore-dependent pathway to selective cell death. *PLoS One*. 2010;5:e11792. DOI: 10.1371/journal.pone.0011792.
4. Garrido-Maraver J., Cordero M.D., Oropesa-Avila M., Vega A.F., de la Mata M., Pavon A.D., Alcocer-Gomez E., Calero C.P., Paz M.V., Alanis M., de Laveria I., Cotan D., Sanchez-Alcazar J.A. Clinical applications of coenzyme Q10. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2014;19:619–633. DOI: 10.2741/4231.
5. Nohl H., Gille L., Staniek K. The biochemical, pathophysiological, and medical aspects of ubiquinone function. *Ann. N.-Y. Acad. Sci.* 1998;20:394–409. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb09919.x.
6. Vadhanavikit S., Ganther H.E. Decreased ubiquinone levels in tissues of rats deficient in selenium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993;190(3):921–926. DOI: 10.1006/bbrc.1993.1137

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Остренко Константин Сергеевич\***, д.б.н., Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»;  
**e-mail: [Ostrenkoks@gmail.com](mailto:Ostrenkoks@gmail.com)**

**Овчарова Анастасия Никитовна**, к.б.н., Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»;  
**e-mail: [a.n.ovcharova@mail.ru](mailto:a.n.ovcharova@mail.ru)**

**Егорова Ольга Павловна**, ООО Научно-производственная компания «ИГЛЕССИЯ»

**Konstantin S. Ostrenko\***, Dr. Sci. (Biol.), The All-Russian Research Institute of Animal Physiology, Biochemistry and Nutrition — the Branch of the Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst;  
**e-mail: [Ostrenkoks@gmail.com](mailto:Ostrenkoks@gmail.com)**

**Anastasia N. Ovcharova**, Cand. Sci. (Biol.), The All-Russian Research Institute of Animal Physiology, Biochemistry and Nutrition — the Branch of the Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst;  
**e-mail: [a.n.ovcharova@mail.ru](mailto:a.n.ovcharova@mail.ru)**

**Olga P. Yegorova**, Scientific and Production Company “Iglesia”

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## ВЛИЯНИЕ МЕЛАНКОРТИНОВ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ ОРГАНАХ КРЫС-САМЦОВ В УСЛОВИЯХ ИНФОРМАЦИОННОГО СТРЕССА

А.Л. Ясенявская<sup>1</sup>, М.А. Сомотруева<sup>1</sup>, Г.Н. Генатуллина<sup>1\*</sup>, А.О. Лендов<sup>2</sup>,  
Л.А. Андреева<sup>3</sup>, Н.Ф. Мясоедов<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России  
414000, Российская Федерация, Астрахань, ул. Бакинская, 121

<sup>2</sup> ГБУЗ АО «Детская городская поликлиника № 1»  
414000, Российская Федерация, Астрахань, ул. Кирова, 47

<sup>3</sup> ФГБУ Институт молекулярной генетики Национального исследовательского  
центра «Курчатовский институт»  
123182, Российская Федерация, Москва, пл. Академика Курчатова, 2

В данной работе изучали влияние нейропептидов — аналогов фрагмента адренкортикотропного гормона — Семакса (зарегистрированный препарат) и АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro (новое соединение) на интенсивность процессов свободнорадикального окисления в иммунокомпетентных органах крыс-самцов на фоне стрессогенного воздействия информационного характера. Создаваемый в эксперименте информационный стресс-фактор способствует усилению процессов перекисидации в иммунокомпетентных органах — тимусе и селезёнке. Снижение уровня ТБК-реактивных продуктов, скорости перекисного окисления липидов, восстановление уровня каталазы в гомогенатах ткани селезёнки и тимуса крыс-самцов определяет протекторное действие изучаемых меланокортинов в условиях экспериментальной модели информационного стресса.

**Ключевые слова:** информационный стресс, меланокортины, Семакс, АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro, перекисное окисление липидов, иммунокомпетентные органы

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Ясенявская А.Л., Сомотруева М.А., Генатуллина Г.Н., Лендов А.О., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. Влияние меланокортинов на интенсивность перекисного окисления липидов в иммунокомпетентных органах крыс-самцов в условиях информационного стресса. *Биомедицина*. 2022;18(1):67–74. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-1-67-74>

Поступила 17.03.2021

Принята после доработки 30.06.2021

Опубликована 10.03.2022

## EFFECTS OF MELANOCORTINS ON THE INTENSITY OF LIPID PEROXIDATION IN IMMUNOCOMPETENT ORGANS OF MALE RATS UNDER INFORMATIONAL STRESS

Anna L. Yasenyavskaya<sup>1</sup>, Marina A. Samotrueva<sup>1</sup>, Guzel N. Genatullina<sup>1\*</sup>,  
Andrey O. Lendov<sup>2</sup>, Lyudmila A. Andreeva<sup>3</sup>, Nikolay F. Myasoedov<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia  
414000, Russian Federation, Astrakhan, Bakinskaya Str., 121

<sup>2</sup> Children's City Polyclinic No. 1  
414000, Russian Federation, Astrakhan, Kirova Str., 47

<sup>3</sup> Institute of Molecular Genetics of National Research Center "Kurchatov Institute"  
123182, Russian Federation, Moscow, Akademika Kurchatova Square, 2

In this work, we investigate effects of neuropeptides – analogues of a fragment of adrenocorticotrophic hormone – Semax (a registered drug) and ACTH (6-9)-Pro-Gly-Pro (a new compound) – on the intensity of free radical oxidation processes in the immunocompetent organs of male rats exposed to informational stress. The simulated informational stress was found to stimulate peroxidation processes in the immunocompetent organs: thymus and spleen. The decrease in the level of TBK-reactive products in the homogenates of the spleen and thymus tissue of male rats, as well as the rate of lipid peroxidation, determine the protective effect of the studied melanocortins under the conditions of simulated informational stress.

**Keywords:** informational stress, melanocortins, Semax, ACTH (6-9)-Pro-Gly-Pro, lipid peroxidation, immunocompetent organs

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

**For citation:** Yasenyavskaya A.L., Samotrueva M.A., Genatullina G.N., Lendov A.O., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. Effects of Melanocortins on the Intensity of Lipid Peroxidation in Immunocompetent Organs of Male Rats under Informational Stress. *Journal Biomed.* 2022;18(1):67–74. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-1-67-74>

Submitted 17.03.2021

Revised 30.06.2021

Published 10.03.2022

## Введение

В последние годы современное общество постоянно подвергается воздействию стрессогенных факторов информационного характера (использование социальных сетей в повседневном общении, рост числа информационных и коммуникационных систем, применение компьютерных технологий, мобильных средств общения и др.), что приводит к истощению адаптационных возможностей организма и развитию функциональных нарушений со стороны систем организма, в частности иммунной [2, 3, 5, 10, 12].

Рассматривая механизмы развития нарушений со стороны иммунной системы в условиях стрессогенного воздействия, необходимо особо отметить роль окислительного стресса, сопровождающегося неконтролируемым свободнорадикальным окислением. По интенсивности этих изменений, образующихся при окислительном

стрессе, можно судить о компенсаторно-приспособительных процессах организма при развитии различных патологических состояний, вызванных в т. ч. в ответ на стрессогенное воздействие. В связи с тем, что стрессорные реакции являются универсальной неспецифической частью большинства патологических состояний, исследование действия стресс-факторов, в т. ч. информационных, на функциональную активность иммунокомпетентных органов является перспективным и актуальным [14]. Наряду с этим поиск универсальных биорегуляторов, способных оказывать восстанавливающее действие на иммунокомпетентные органы, приводя к нормализации дисбаланса в системе про/антиоксидантов в условиях стрессогенного воздействия, является важным и актуальным направлением современной экспериментальной медицины [6, 8, 18, 19]. В качестве перспективных средств коррек-

ции стресс-индуцированных нарушений иммунной системы интерес представляют нейропептиды, относящиеся к группе меланокортинов: Семакс (АКТГ(4-7)-Pro-Gly-Pro), зарегистрированный препарат, которому принадлежит важная роль среди известных регуляторов гомеостаза [1, 2, 10, 16, 17], и новый аналог фрагмента адренкортикотропного гормона (АКТГ) — АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro. В настоящее время исследования, направленные на расширение спектра фармакологических свойств меланокортинов, активно продолжаются.

**Целью** исследования явилось изучение влияния меланокортинов на интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), активность каталазы в тимусе и селезенке крыс-самцов в условиях экспериментальной модели информационного стресса.

### Материалы и методы

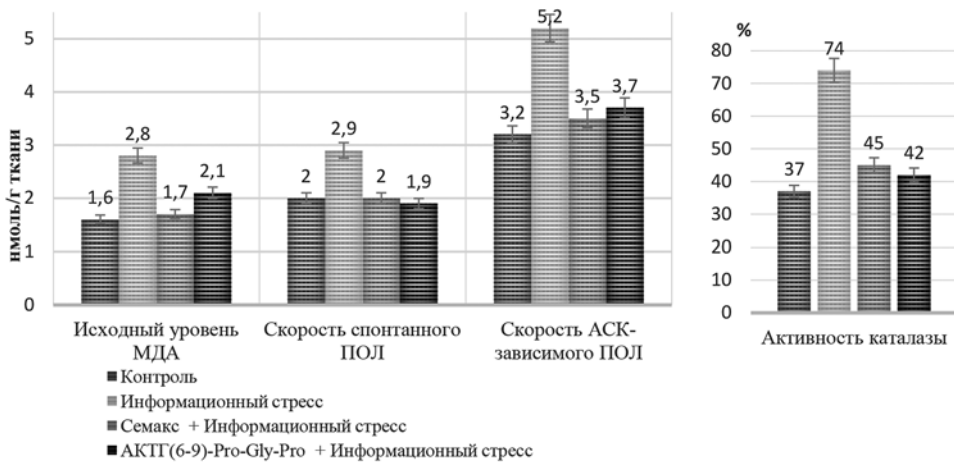
Исследования выполнены на белых нелинейных крысах-самцах в возрасте 6–8 мес., массой 250–350 г, полученных из вивария лаборатории физиологии, морфологии, генетики и биомедицины ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. На протяжении всего эксперимента животных содержали в стандартных условиях вивария Астраханского государственного медицинского университета. Эксперименты проводили в соответствии с Приказом Минздрава России № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Лабораторные животные были разделены на 4 группы (n=10): группа интактных самцов, которые получали в эквивалентном объеме воду для инъекций внутривенно; группа животных, на которых воспроизводили модель информационного стресса и которые внутривенно получали в эквивалентном объеме воду для инъекций на протяжении 20-ти дней; 2 опытные группы крыс-самцов, по-

лучавших Семакс и АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro в дозе 100 мкг/кг/сут на фоне стрессогенного воздействия (20 дней). Информационный стресс моделировали путём формирования пищедобывательного поведения в многоальтернативном лабиринте [11]. Для усложнения задачи, поставленной перед животными, структуру лабиринта меняли каждый день. Для определения показателей ПОЛ (исходного содержания малонового диальдегида (МДА), скорости спонтанного и аскорбатзависимого ПОЛ (АСК-зависимого ПОЛ)), а также для оценки активности каталазы в гомогенате тимуса и селезенки экспериментальных животных применяли стандартные спектрофотометрические методы [9]. Результаты эксперимента статистически обрабатывали с использованием программ Microsoft Office Excel 2007 («Microsoft Corp.», США), BioStat 2008 Professional 5.1.3.1 («AnalystSoft», США). Для обработки полученных результатов использовали параметрический метод (определение t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони). Статистически значимыми различия считали при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

В ходе проведенного эксперимента у животных, подвергавшихся воздействию информационного стресса, наблюдалось увеличение скорости спонтанного ПОЛ — на 30% ( $p < 0,05$ ), АСК-зависимого ПОЛ — практически на 40% ( $p < 0,01$ ), а также исходного уровня МДА в селезенке — более чем на 40% ( $p < 0,01$ ) (рис. 1). Следует отметить, что в условиях экспериментального информационного стресса отмечается значительное повышение активности каталазы в среднем в 2 раза ( $p < 0,001$ ) от контрольных значений, что в свою очередь свидетельствует о формировании окислительного стресса.

В условиях введения меланокортинов животным, подвергавшимся воздействию информационного стресса, наблюдалось сни-



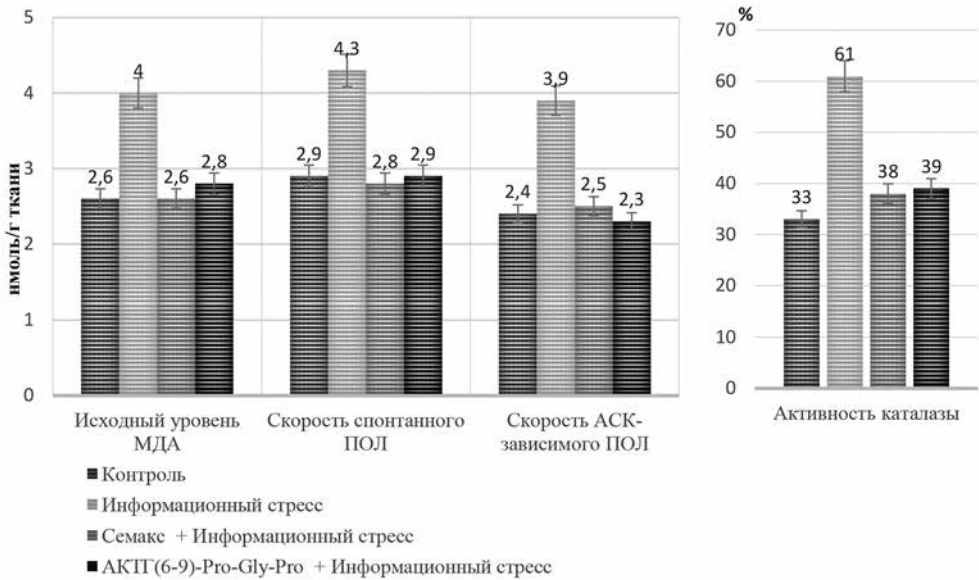
**Рис. 1.** Влияние нейропептидов на показатели ПОЛ и активность каталазы в селезёнке крыс-самцов в условиях информационного стресса.

**Fig. 1.** Effects of the studied neuropeptides on lipid peroxidation and catalase activity in the spleen of male rats exposed to informational stress.

жение показателей ПОЛ в селезёнке (рис. 1). В условиях введения Семакса исходный уровень МДА понижался более чем на 40% ( $p < 0,001$ ) в сравнении с уровнем данного показателя у животных, подвергшихся воздействию информационного стресса. Менее активным оказался АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro, снижая уровень ТБК-реактивных продуктов у животных, подвергавшихся воздействию информационного стресса, практически на 30% ( $p < 0,05$ ). При изучении действия меланокортинов на показатели спонтанного и АСК-зависимого ПОЛ в селезёнке крыс-самцов в условиях информационного стресса было установлено, что изучаемые нейропептидные соединения способны снижать уровень данных показателей в среднем более чем на 30% ( $p < 0,01$ ). При оценке показателей активности каталазы в гомогенате селезёнки в группах животных, получавших Семакс и АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro на фоне воздействия информационного стресса, наблюдалось снижение изучаемого показателя в среднем на 30% ( $p < 0,01$ ).

Одним из этапов исследования было изучение влияния информационного стресса

на процессы пероксидации в тимусе, в ходе которого было определено формирование иммунного дисбаланса, проявляющегося увеличением скорости показателей спонтанного и АСК-зависимого ПОЛ, а также исходного уровня МДА более чем на 40% ( $p < 0,01$ ) (рис. 2). Следует отметить повышение активности каталазы в группе стрессированных животных более чем на 30% ( $p < 0,01$ ). У крыс-самцов, подверженных воздействию информационного стресса, в гомогенате тимуса отмечалось снижение исходного уровня МДА под влиянием Семакса практически на 40% ( $p < 0,01$ ), под влиянием АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro — на 30% ( $p < 0,01$ ). В ходе изучения нейропептидов в условиях информационного стресса было установлено, что Семакс проявил себя как эффективный иммунокорректор, подавляя стресс-реактивные проявления, снижая скорость спонтанного ПОЛ и АСК-зависимого ПОЛ в среднем на 40% ( $p < 0,01$ ) в гомогенате тимуса животных опытных групп. В условиях АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro скорость спонтанного ПОЛ снизилась более чем на 30% ( $p < 0,01$ ) в сравнении



**Рис. 2.** Влияние нейропептидов на показатели ПОЛ и активность каталазы в тимусе крыс-самцов в условиях информационного стресса.

**Fig. 2.** Effects of the studied neuropeptides on lipid peroxidation and catalase activity in the thymus of male rats exposed to informational stress.

с животными, подвергавшимся воздействию информационного стресса, а скорость АСК-зависимого ПОЛ восстановилась до контрольных значений. Активность каталазы под влиянием меланокортинов снизилась в среднем практически на 40% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с группой животных, подверженных стрессу.

Полученные данные свидетельствуют о наличии выраженных стресс-протекторных и иммуномодулирующих свойств как у Семакса, так и у нового соединения из группы меланокортинов АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro, что выражалось в подавлении активизированных продуктов свободно-радикального окисления. Важно отметить, что влияние Семакса на иммунную систему наблюдалось и ранее: было доказано

иммунокорректирующее действие Семакса, способного восстанавливать нарушения со стороны иммунной системы, что подтверждается и нашими исследованиями [1, 2, 6, 9].

## Выводы

Таким образом, актуальность научных изысканий в области иммунореагирования в условиях стрессогенного воздействия свидетельствует о необходимости поиска веществ, оказывающих стресспротекторное и иммуномодулирующее действие, среди средств нейропептидной природы, которые характеризуются широким спектром действия, что определяет перспективность дальнейшего изучения с целью последующего практического применения в медицине.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Агапова Т.Ю., Агниуллин Я.В., Силачев Д.Н., Шадрин М.И., Сломинский Н.А., Шрам С.И., Лимборская С.А., Мясоедов Н.Ф. Изменение экспрессии генов внутриклеточных сигнальных путей в гиппокампе крыс под действием пептида семакс. *Доклады Академии наук*. 2007;417(4):550–552. [Agarova T.Yu., Agniullin Ja.V., Silachev D.N., Shadrina M.I., Slominskij N.A., Shram S.I., Limborskaja S.A., Mjasoedov N.F. Izmenenie jekspressii genov vnutrikletocnyh signal'nyh putej v gip-pokampe krysv pod dejstviem peptida semaks [Changes in gene expression of intracellular signaling pathways in the rat hippocampus under the action of semax peptide]. *Doklady Akademii nauk [Reports of the Academy of Sciences]*. 2007;417(4):550–552. (In Russian)].
2. Додонова С.А., Белых А.Е., Бобынцев И.И. Регуляторные пептиды семейства меланокортинов: биосинтез, рецепция, биологические эффекты. *Человек и его здоровье*. 2018;(1):99–108. [Dodonova S.A., Belykh A.E., Bobytsev I.I. Reguljatornye peptidy semejstva melanokortinov: biosintez, recepcija, biologicheskie jeffekty [Regulatory peptides of the melanocortin family: biosynthesis, reception, biological effects]. *Chelovek i ego zdorov'e [Human and their Health]*. 2018;(1):99–108. (In Russian)]. DOI: 10.21626/vestnik/2018-1/15.
3. Долотов О.В., Середенина Т.С., Левицкая Н.Г. Гептапептид Семакс стимулирует экспрессию BDNF в различных отделах мозга крысы *in vivo*. *Доклады Академии наук*. 2003;391(1):131–134. [Dolotov O.V., Seredenina T.S., Levickaja N.G. Heptapeptid Semaks stimuluiret jekspressiju BDNF v razlichnyh otdelah mozga krysy *in vivo* [Heptapeptide Semax stimulates the expression of BDNF in various parts of the rat brain *in vivo*]. *Doklady Akademii nauk [Reports of the Academy of Sciences]*. 2003;391(1):131–134. (In Russian)].
4. Касьмова Е.Б., Башкина О.А., Галимзянов Х.М. Особенности иммунного статуса и факторы риска хронического течения Эпштейна—Барр вирусной инфекции у детей. Новая наука: Современное состояние и пути развития. 2016;8:16–20. [Kasy-mova E.B., Bashkina O.A., Galimzyanov Kh.M. Oso-bennosti immunnogo statusa i faktory riska hronicheskogo techenija Jepshtejna—Barr virusnoj infekcii u detej [Features of the immune status and risk factors for chronic Epstein—Barr viral infection in children]. *Novaya nauka: Sovremennoye sostoyaniye i puti razvitiya [New Science: The Current State and Ways of Development]*. 2016;8:16–20 (In Russian)].
5. Ковтунович М.Г., Маркачев К.Е. Информационный стресс. *Психологическая наука и образование*. 2008;5:83–91. [Kovtunovich M.G., Markachev K.E. Informacionnyj stress [Information stress]. *Psikhologicheskaya nauka i obrazovanie [Psychological Science and Education]*. 2008;5:83–91. (In Russian)].
6. Левицкая Н.Г., Глазова Н.Ю., Себенцова Е.А., Манченко Д.М., Виленский Д.А., Андреева Л.А., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Исследование спектра физиологической активности аналога АКПГ4-10 гептапептидасемакс. *Нейрохимия*. 2008;25(1):111–118. [Levitskaya N.G., Glazova N.Yu., Sebentsova E.A., Manchenko D.M., Vilenskiy D.A., Andreyeva L.A., Kamenskiy A.A., Myasoyedov N.F. Issledovanie spektra fiziologicheskoy aktivnosti analoga AKTPG4-10 heptapeptidasemaks [Study of the spectrum of physiological activity of ACTH4-10 analog of heptapeptide semax]. *Nejrohimiya [Neurochemical Journal]*. 2008;25(1):111–118. (In Russian)].
7. Медведева Н.И. Современная социальная среда как фактор и источник информационного стресса. *Вестник Северо-Кавказского федерального университета*. 2015;2(47):235–239. [Medvedeva N.I. Sovremennaja social'naja sreda kak faktor i istochnik informacionnogo stressa [Modern social environment as a factor and a source of informational stress]. *Vestnik Severo-Kavkazskogo federal'nogo universiteta [Bulletin of the North Caucasus Federal University]*. 2015;2(47):235–239. (In Russian)].
8. Миронова Е.С., Линькова Н.С., Попович И.Г., Козина Л.С., Хавинсон В.Х. Нейропротекторные эффекты пептидов. *Ученый геронтолог*. 2020;33(2):299–306. [Mironova E.S., Lin'kova N.S., Popovich I.G., Kozina L.S., Havinson V.H. Nejproptektornye jeffekty peptidov [Neuroprotective effects of peptides]. *Uspehi gerontologii [Advances in Gerontology]*. 2020;33(2):299–306. (In Russian)].
9. Мурталиева В.Х., Ясенявская А.Л. Влияние Семакса на клеточное и гуморальное звенья иммунного ответа на модели «социального» стресса. В сб.: *Инновационное развитие современной науки: проблемы, закономерности, перспективы. Сборник статей IV Международной научно-практической конференции*. 2017:214–216. [Murtalieva V.H., Jasenjavskaja A.L. Vlijanie Semaksa na kletocnoe i gumoral'noe zven'ja immunnogo otveta na modeli «social'nogo» stressa [The influence of Semax on the cellular and humoral links of the immune response to models of “social” stress]. In: *Innovacionnoe razvitie sovremennoj nauki: problema, zakonmernosti, perspektivy. Sbornik statej IV Mezhduнародной научно-практической конференции*. [Innovative Development of Modern Science: Problems, Patterns, Prospects. Collection of articles of the IV International Scientific and Practical Conference]. 2017:214–216. (In Russian)].
10. Наточин Ю.В., Пруцкова Н.П. Всасывание функционально активного аргинин-вазотонина в тонкой кишке лягушки. *Доклады Академии наук*. 2004;394(5):700–702. [Natochin Ju.V., Pruckova N.P. Vsasyvanie funkcional'no aktivnogo arginin-vazotocina v tonkoj kishke ljagushki [Absorption of



- functionally active arginine-vasotocin in the small intestine of a frog]. *Doklady Akademii nauk [Reports of the Academy of Sciences]*. 2004;394(5):700–702. (In Russian)].
11. Никольская К.А., Савоненко А.В., Осипов А.И., Ещенко О.В., Карась А.Я. Информационная роль инстинкта при организации целенаправленного поведения. *Успехи современной биологии*. 1995;115(4):390–396. [Nikol'skaya K.A., Savonenko A.V., Osipov A.I., Eshchenko O.V., Karas' A.Ya. Informacionnaja rol' instinkta pri organizacii celenapravlennoogo povedenija [Informational role of instinct in the organization of purposeful behavior]. *Uspehi sovremennoj biologii [Advances in Modern Biology]*. 1995;115(4):390–396. (In Russian)].
  12. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Под ред. А.Н. Миронова. М.: Изд-во Гриф и К, 2012:944. [Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv [Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products]. Ed. by A.N. Mironov. Moscow: Grif i K Publ., 2012:944. (In Russian)].
  13. Сомотруева М.А., Сергалиева М.У., Ясенявская А.Л., Мажитова М.В., Теплый Д.Л., Кантемирова Б.И. Информационный стресс: причины, экспериментальные модели, влияние на организм. Астраханский медицинский журнал. *Медико-биологические науки*. 2015;10(4):25–30. [Samotrueva M.A., Sergaliyeva M.U., Yaseniyavskaya A.L., Mazhitova M.V., Teplyj D.L., Kantemirova B.I. Informacionnyj stress: prichiny, jeksperimental'nye modeli, vlijanie na organizm [Information stress: causes, experimental models, influence on organism]. *Astrakhan Medical Journal. Medical and Biological Sciences*. 2015;10(4):25–30. (In Russian)].
  14. Сомотруева М.А., Тюренок И.Н., Теплый Д.Л., Лужнова С.А., Магомедов М.М. Выраженность иммунокорректирующих свойств фенотропила при применении в различные сроки относительно индукции иммуносупрессии. *Медицинская иммунология*. 2009;11(6):567–570. [Samotrueva M.A., Tjurenkov I.N., Teplyj D.L., Luzhnova S.A., Magomedov M.M. Vyrazhennost' immunokorrigirujushhix svojstv fenotropila pri primenenii v razlichnye stroki odnositel'no indukcii immunosupressii [The expression of the immunocorrective properties of phenotropil when used at different times relative to the induction of immunosuppression]. *Medical Immunology (Russia)*. 2009;11(6):567–570. (In Russian)].
  15. Федорова О.В., Краюшкина Н.Г., Шефер Е.Г. Постстрессовая модуляция органов иммуногенеза. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2010;3(35):8–12. [Fedorova O.V., Krajushkina N.G., Shefer E.G. Poststressovaja moduljacija organov immunogeneza [Poststress system of immunogenesis]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. [Journal of Volgograd State Medical University]*. 2010;3(35):8–12. (In Russian)].
  16. Ashmarin I.P., Nezavibatko V.N., Myasoedov N.F., Kamensky A.A., Grivennikov I.A., Ponomareva-Stepnaya M.A., Andreeva L.A., Kaplan A.Y., Koshelev V.B., Rjasina T.V. Nootropic analogue of adrenocorticotropin 4-10-semax (the experience of design and investigation over 15 years). *I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*. 1997;47(2):429–430.
  17. Dolotov O.V., Karpenko E.A., Inozemtseva L.S., Seredenina T.S., Levitskaya N.G., Dubynina E.V., Novosadova E.V., Andreeva L.A., et al. Semax, an analog of ACTH(4-10) with cognitive effects, regulates BDNF and TRKB expression in the rat hippocampus. *Brain Res*. 2006;1117(1):54–60. DOI: 10.1016/j.brainres.2006.07.108.
  18. Fedorova V.N., Koroleva S.V., Zubova T.A., et al. Preparations based on regulatory peptides — a new class of medicines. *Neurochemical J*. 2020;14(4):362–374.
  19. Kolomin T., Shadrina M., Slominsky P., et al. A new generation of drugs: synthetic peptides based on natural regulatory peptides. *Neurosci. Med*. 2013;4(4):223–252.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Ясенявская Анна Леонидовна**, к.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России;  
e-mail: [yasen\\_9@mail.ru](mailto:yasen_9@mail.ru)

**Сомотруева Марина Александровна**, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России;  
e-mail: [ms1506@mail.ru](mailto:ms1506@mail.ru)

**Anna L. Yaseniyavskaya**, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;  
e-mail: [yasen\\_9@mail.ru](mailto:yasen_9@mail.ru)

**Marina A. Samotrueva**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;  
e-mail: [ms1506@mail.ru](mailto:ms1506@mail.ru)

**Генатуллина Гузель Наилевна\***, к.б.н., ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России;  
**e-mail:** [genatullina@mail.ru](mailto:genatullina@mail.ru)

**Лендов Андрей Олегович**, ГБУЗ АО «Детская городская поликлиника № 1»;  
**e-mail:** [lendov@yandex.ru](mailto:lendov@yandex.ru)

**Андреева Людмила Александровна**, ФГБУ Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»;  
**e-mail:** [landr@img.ras.ru](mailto:landr@img.ras.ru)

**Мясоедов Николай Федорович**, д.х.н., проф., ФГБУ Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»;  
**e-mail:** [nfm@img.ras.ru](mailto:nfm@img.ras.ru)

**Guzel N. Genatullina\***, Cand. Sci. (Biol.), Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;  
**e-mail:** [genatullina@mail.ru](mailto:genatullina@mail.ru)

**Andrey O. Lendov**, Children's City Polyclinic No. 1;  
**e-mail:** [lendov@yandex.ru](mailto:lendov@yandex.ru)

**Lyudmila A. Andreeva**, Institute of Molecular Genetics of the National Research Center "Kurchatov Institute";  
**e-mail:** [landr@img.ras.ru](mailto:landr@img.ras.ru)

**Nikolay F. Myasoedov**, Dr. Sci. (Chem.), Prof., Institute of Molecular Genetics of the National Research Center "Kurchatov Institute";  
**e-mail:** [nfm@img.ras.ru](mailto:nfm@img.ras.ru)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

# 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**  
полнораационные,  
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](http://www.laboratorkorm.ru)



## Лаборатория № 3 (токсикологии и диагностики) ФГБУН НЦБМТ ФМБА России

В лаборатории № 3 (зав. лаб. – Алимкина Оксана Владимировна) проводятся исследования биологических жидкостей и сред организма лабораторных животных, в т.ч. биохимические, гематологические и иммуноферментные анализы крови, клинические исследования мочи и микроскопия кала животных, а также острая и хроническая токсикология лекарственных средств.

Выполняемые задачи:

- контроль здоровья экспериментальных и содержащихся в вивариях животных;
- изучение безопасности и верификация эффективности тестируемых лекарственных средств.

