

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

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

# БИОМЕДИЦИНА

SCIENTIFIC JOURNAL

JOURNAL BIOMED

Том (Vol.) 19

2023

3



28 августа 2023 года

ИСПОЛНИЛОСЬ



80  
лет



## Николаю Николаевичу КАРКИЩЕНКО

научному руководителю ФГБУН НЦБМТ ФМБА России,  
главному редактору научного журнала «Биомедицина»,  
доктору медицинских наук, профессору,  
члену-корреспонденту РАМН (2000 г.) и РАН (2014 г.),  
академику Российской академии ракетных и артиллерийских наук  
и Международной академии астронавтики (Париж).



### ПРАВИТЕЛЬСТВЕННАЯ ТЕЛЕГРАММА

*Научному руководителю ФГБУН «Научный центр  
биомедицинских технологий ФМБА России» Н.Н. Каркищенко*

*Уважаемый Николай Николаевич!*

*От имени Федерального медико-биологического агентства сердечно поздравляю Вас с 80-летием! Талантливый учёный и организатор здравоохранения, Вы посвятили свою жизнь преданному служению медицинской науке. Примите слова глубокой признательности за Ваши многолетний добросовестный труд в системе Федерального медико-биологического агентства, бесценный вклад в развитие отечественной клинической фармакологии и биомедицины, воспитание целой плеяды высококвалифицированных ученых и специалистов. От всей души желаю Вам крепкого здоровья, неиссякаемой энергии и долгих лет активной творческой жизни на благо науки и здравоохранения России!*

*Руководитель ФМБА России В.И. Скворцова*

#### **Свои поздравления с юбилеем Николаю Николаевичу прислали:**

Глава республики КОМИ, профессор В.В. Уйба, Губернатор Ростовской области В.Ю. Голубев;  
Главный ученый секретарь президиума РАН академ. М.В. Дубина; академики-секретари отделений и секций,  
а также действительные члены и советники РАН, Российской академии ракетных и артиллерийских наук  
(РАРАН) и Международной академии астронавтики (Париж);  
Федерация космонавтики — президент, дважды Герой Советского Союза А.П. Александров;  
Научные общества фармакологов, физиологов, токсикологов, психиатров;  
РМАНПО — ректор, академик РАН Д.А. Сычёв; коллектив и ректорат РостГМУ — профессора В.Г. Заика,  
Ю.С. Макляков, А.В. Тараканов, А.В. Сафроненко, С.В. Шлык и другие; КубГМУ — член-корреспондент РАН  
П.А. Галенко-Ярошевский; факультет биоинженерии и медицины ДГТУ;  
НПО специальных материалов — генеральный директор, генеральный конструктор, член-корреспондент  
РАН, академик РАРАН М.В. Сильников; АО Центр «Армоком» — генеральный директор, академик РАРАН  
Е.Ф. Харченко; руководители ряда НИИ и КБ ФМБА России, Минобороны и Минобрнауки России;  
коллеги, друзья и ученики.



## Николай Николаевич Каркищенко



Родился будущий учёный в селе Койсуг Ростовской области в 1943 году. На Дону в это время шли кровопролитные бои, отец сражался снайпером вдали от дома. После войны семья переехала в Азов, где Николай в 1961 году закончил среднюю школу и поступил в Ростовский государственный медицинский институт.

Ещё студентом Николай Каркищенко стал публиковать свои статьи в академических журналах. Обучение он закончил в 1967 году с красным дипломом и по рекомендации Ученого совета института сразу без обучения в аспирантуре приступил к оформлению кандидатской диссертации. Через полгода он защитил диссертацию, получил кандидатскую степень и остался работать в стенах института.

В 1976 году Николай Каркищенко создал первую в СССР кафедру клинической фармакологии. Наряду с научно-исследовательской работой по фармакологии и клинической фармакологии, он по предложению компетентных инстанций был включен в состав исполнителей Государственной программы по боевым дельфинам в Казачьей бухте (Севастополь, Инкерман).

В 1978 году на XVIII съезде комсомола председатель Совета молодых ученых и специалистов Ростовской области Н.Н. Каркищенко был избран членом ЦК ВЛКСМ и стал соруководителем Совета молодых учёных и специалистов при ЦК ВЛКСМ.

Двадцать лет Николай Николаевич Каркищенко отработал в родном ВУЗе, став в 1980 году самым молодым руководителем медицинского учебного заведения в стране. С первых дней на посту ректора занялся реорганизацией — пригласил талантливых выпускников, сформировал мощный кадровый резерв. Главным стало целевое реформирование руководящего состава как кафедр, так и института. Впервые внедрив в РОДНМИ подготовку научно-педагогических кадров через докторантуру, удалось быстро омолодить кадровый состав докторов наук и профессоров. Появились новые кафедры и исследовательские группы, заработал Институт повышения квалификации для врачей и специалистов. Реформированы были программы подготовки иностранных студентов. В период ректорства Н.Н. Каркищенко развивалась материальная база, начато строительство подготовительного факультета иностранных студентов площадью более 10 тыс. кв. метров, построен и введен в действие лечебно-диагностический корпус с новыми медицинскими технологиями диагностики и лечения. Были созданы и оснащены современным отечественным и импортным оборудованием реанимационные и клиничко-лабораторные отделения, собственное медицинское училище, межвузовская студенческая поликлиника.

В мае 1986 года, а это были фактически первые дни после аварии на ЧАЭС, учёного направили в Чернобыль. Решением Военно-промышленной комиссии страны Н.Н. Каркищенко в том же году был направлен в особо режимное 3-е Главное управление при Минздраве СССР (ныне — ФМБА России), где возглавил весь блок оборонных медико-биологических научных работ. Был назначен руководителем Государственной медицинской комиссии по отбору и обеспечению полетов космонавтов и Госкомиссии по акванавтам и гидронавтам. Участвовал в проведении специальных биомедицинских испытаний на Байконуре, в Капустином Яре, на Семипалатинском, Лужском и других полигонах.

С 1990 года работал в должности Заместителя Министра здравоохранения России. Организовал Институт повышения квалификации для спецконтингентов (врачей и специалистов), создал и возглавил в нем новую кафедру клинической фармакологии. Под его руководством и при личном участии в этот период созданы и внедрены десятки новых лекарственных средств, в т. ч. на основе нанотехнологий, для защиты космонавтов, подводников, спецконтингентов и гражданского населения от воздействия экстремальных факторов и оружия массового поражения. В тесном сотрудничестве с организациями Минобороны России и других силовых ведомств он участвовал в работах по созданию специальных средств защиты при огнестрельных ранениях, контузиях, гипо- и гипертермии, разработаны и внедрены ряд средств протекции от неблагоприятных факторов химического, биологического, электромагнитного, акустического и радиационного воздействия на человека.

В настоящее время под его руководством разрабатываются фундаментальные аспекты биомедицинских технологий с использованием стволовых и прогениторных клеток, методы фармакогеномики и биоэквивалентности для повышения эффективности и безопасности фармакотерапии, в т. ч. спец-

средств. Важными направлениями научной деятельности Н.Н. Каркищенко являются разработка и использование биомедицинских и нанотехнологий в создании и внедрении новых препаратов с нейротропной и антистрессорной активностью, в т. ч. на основе пиримидинов, цитокинов и пептидов.

С 1994 года работал в системе РАМН, организовал и возглавил Институт новых технологий РАМН, реорганизованный в 2002 году в ГУ «Научный центр биомедицинских технологий РАМН», а в 2013 году переданный в ведение ФМБА России. В должности научного руководителя ФГБУН НЦБМТ ФМБА России Н.Н. Каркищенко работает по настоящее время.

Н.Н. Каркищенко создал фармакологическую школу, является автором более 620 научных работ, среди которых 28 монографий и учебников, автором и соавтором 52 патентов, научным руководителем 46 кандидатских и 15 докторских диссертаций. Под его руководством и при личном участии ведутся научно-исследовательские разработки по биобезопасности, критическим технологиям и оборонным темам, разработаны новые подходы к доклинической оценке лекарственных средств и создана оригинальная научная концепция психоуниропизма, отражённая в ряде научных трудов.

Н.Н. Каркищенко создал и возглавляет научный журнал «Биомедицина», издаваемый НЦБМТ ФМБА России, является членом редколлегий ряда научных журналов, членом закрытого экспертного совета ВАК России, двух диссертационных советов, а также межведомственных советов по специальной и оборонной тематике.

Удостоен многих наград и премий, в числе которых Премия Ленинского комсомола в области науки и техники, Знак ЦК ВЛКСМ «Трудовая доблесть», Знак Отличник здравоохранения, две Государственные премии СССР в области науки и техники, Премия Президиума РАМН в области науки и техники, Премия Правительства России в области науки и техники. Награжден Орденом Почета, Медалью Жукова, медалями «Участник ликвидации последствий аварии ЧАЭС», «За заслуги в создании вооружений и военной техники», «За вклад в науку», а также медалями, почетными знаками и грамотами ФМБА России, РАН, Главного Управления Вооружений и Главного Разведывательного Управления ГШ Вооруженных сил РФ, Минздрава и иных государственных и общественных организаций СССР, Российской Федерации и зарубежных стран.

**Коллектив НЦБМТ ФМБА России и редакция журнала «Биомедицина» присоединяются ко всем добрым словам коллег и сердечно поздравляют с Юбилеем чуткого, отзывчивого, глубоко интеллигентного и обладающего уникальным жизнелюбием и искромётным юмором, лучшего и бессменного руководителя! От всей души желаем дорогому и глубокоуважаемому Николаю Николаевичу Каркищенко богатейского здоровья, долгих и счастливых лет, достижения новых творческих высот и всех намеченных целей!**



ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий  
ФМБА России»

# БИОМЕДИЦИНА

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2005 г.  
4 выпуска в год

---

2023, Том 19, № 3

---

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

# JOURNAL BIOMED

SCIENTIFIC JOURNAL

Published since 2005.  
Quarterly.

---

2023, Vol. 19, No. 3

---

# 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)

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

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

**Дубина Михаил Владимирович**, д.м.н., акад. РАН (Москва, Россия)

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

**Еримбетов Кенес Тагаевич**, д.б.н. (Боровск, Калужская обл., Россия)

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

**Коваленко Леонид Владимирович**, д.х.н., проф. (Москва, Россия)

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

**Кузнецов Александр Евгеньевич**, д.т.н., проф. (Москва, Россия)

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

**Мартиросян Владимир Викторович**, д.т.н., проф. РАН (Москва, 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)

**Остренко Константин Сергеевич**, д.б.н. (Боровск, Калужская обл., 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., акад. РАН (Москва, Россия)

**Федулова Лилия Вячеславовна**, д.т.н., проф. РАН (Москва, Россия)

**Хритинин Дмитрий Фёдорович**, д.м.н., проф., акад. РАН (Москва, Россия)

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

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

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

**Щастный Анатолий Тадеушевич**, д.м.н., проф. (Витебск, Республика Беларусь)

# 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 «Издательство «Триада». 170034, Тверская область, Тверь, пр. Чайковского, 9, оф. 514
<b>Дата выхода в свет:</b>	10.09.2023

# 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)

**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 (Moscow, Russia)

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

**Kenes T. Erimbetov**, Dr. Sci. (Biol.) (Borovsk, Kaluga Region, Russia)

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

**Leonid V. Kovalenko**, Dr. Sci. (Chem.), Prof. (Moscow, Russia)

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

**Aleksandr E. Kuznetsov**, Dr. Sci. (Tech.), Prof. (Moscow, Russia)

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

**Vladimir V. Martirosyan**, Dr. Sci. (Tech.), Prof. of the RAS (Moscow, 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)

**Konstantin S. Ostrenko**, Dr. Sci. (Biol.) (Borovsk, Kaluga Region, 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., Acad. of the RAS (Moscow, Russia)

**Liliya V. Fedulova**, Dr. Sci. (Tech.), Prof. 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)

**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)

**Anatoliy T. Shchastnyj**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Vitebsk, Republic of Belarus)

# 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>	LTD «Publishing House «Triada». 170034, Russian Federation, Tver, Tchaikovsky Ave., 9, office 514
<b>Publication date:</b>	10.09.2023

**■ МЕТОДЫ И ТЕХНОЛОГИИ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ****А.М. Зубалий, М.М. Гусева**

Пищевые предпочтения вольерной кабарги сибирской – продуцента фармацевтического сырья . . . 10

**Е.М. Колоскова, В.А. Езерский**

Рекомбинантный миостатин: выделение и использование в вакцинах . . . . . 17

**Д.А. Ксенофонтов, А.А. Ксенофонтова**

Метод изучения кальциевого гомеостаза на уровне гастро-энтеральной среды у мини-пигов . . . . . 23

**М.С. Нестеров, Р.А. Агельдинов, Д.В. Хвостов, С.Л. Люблинский,****И.Н. Люблинская, В.Н. Каркищенко**

Модификация и усовершенствование состава липосом экстракта препуциальной железы мускуса кабарги сибирской . . . . . 29

**Н.С. Огнева, Л.А. Табоякова, О.В. Алимкина, Н.В. Петрова**Ингаляционное введение препарата Лейтрагин мышам линии C57BL/6Y в модели ОРДС повышает уровень экспрессии гена *SIRT1* . . . . . 36**К.С. Остренко**

Нормотимический эффект аскорбата лития на биомедицинских моделях свиней . . . . . 42

**А.В. Сафроненко, О.М. Куделина, Е.В. Ганцгорн, М.Х.-Б. Бураева, М.Х.-Б. Бураева,****А.А. Митенева, Л.Р. Швелидзе, Д.А. Калмыкова, А.А. Ильина, В.З. Лачинов**

Современный взгляд и анализ перспективных подходов к лечению меланомы . . . . . 47

**Н.С. Тропская, О.В. Разбицкая**

Методика анализа электрической активности головного мозга в экспериментах на лабораторных животных . . . . . 53

**Ю.В. Фокин, С.Ю. Харитонов, Л.А. Табоякова, Н.Н. Каркищенко**

Фармако-ЭЭГ анализ влияния на гиппокамп кошек ацетилхолина и инсулина в наночастицах . . . 58

**■ РЕЛЕВАНТНОЕ И АЛЬТЕРНАТИВНОЕ БИОМОДЕЛИРОВАНИЕ****К.Т. Еримбетов, Р.А. Земляной, А.В. Федорова, О.В. Обвинцева**

Экспериментальная модель обоснования применения новых форм биологически активных веществ для коррекции физиологических процессов и функций . . . . . 66

**Д.В. Петров, А.А. Иванов, Е.В. Панина, Н.В. Петрова, А.Е. Сорочан**

Влияние воды, обогащённой молекулярным водородом, на надпочечники малой длиннохвостой шиншиллы . . . . . 71

**■ ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОМЕДИЦИНЕ****В.А. Приходько, Т.М. Матузок, С.В. Оковитый**

Нарушения нейромышечной передачи у лептинрезистентных мышей . . . . . 77

**Е.Б. Шустов, А.Е. Ким**

Профиль безопасности нового производного диметиламиноэтанола при пероральном пути введения лабораторным животным . . . . . 82

**■ БИОМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ****И.А. Помыткин, В.В. Писарев, М.Е. Меркулов, Е.Б. Кузнецова, Е.А. Салина,****А.Ю. Малыгин, Н.Н. Каркищенко**

Результаты клинического исследования II фазы лекарственного препарата Дирекорд: рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое, с параллельными группами, проспективное исследование по подбору оптимальной дозировки и изучению эффективности, безопасности и переносимости у пациентов с ишемическим инсультом в раннем восстановительном периоде . . . . . 87

## ■ METHODS AND TECHNOLOGIES OF BIOMEDICAL RESEARCH

<b>Anastasiia M. Zubalii, Mariya M. Guseva</b> Food Preferences of Captive Siberian Musk Deer – a Producer of Pharmaceutical Raw Materials . . . . .	10
<b>Elena M. Koloskova, Vadim A. Ezerskiy</b> Recombinant Myostatin: Isolation and Use in Vaccines . . . . .	17
<b>Dmitriy A. Ksenofontov, Anzhelika A. Ksenofontova</b> Method for Studying Calcium Homeostasis at the Level of Gastroenteral Environment in Minipigs . . . . .	23
<b>Maxim S. Nesterov, Ruslan A. Ageldinov, Daniil V. Khvostov, Stanislav L. Lyublinskiy, Irina N. Lyublinskaya, Vladislav N. Karkischenko</b> Modification and Improvement of the Liposome Composition of Preputial Gland Extract of Siberian Musk Deer . . . . .	29
<b>Nastasya S. Ogneva, Lidiya A. Taboyakova, Oksana V. Alimkina, Nataliya V. Petrova</b> Inhalation Administration of Leytragrin to C57BL/6Y Mice in an ARDS Model Increases the Expression Level of <i>SIRT1</i> Gene . . . . .	36
<b>Konstantin S. Ostrenko</b> Normothymic Effect of Lithium Ascorbate on Biomedical Models of Pigs . . . . .	42
<b>Andrey V. Safronenko, Oksana M. Kudelina, Elena V. Gantsgorn, Maret Kh.-B. Buraeva, Malika Kh.-B. Buraeva, Anna A. Miteneva, Luka R. Shvelidze, Darya A. Kalmykova, Alisa A. Ilyina, Vadim Z. Lachinov</b> Modern Views and Analysis of Promising Approaches to the Treatment of Melanoma . . . . .	47
<b>Nataliya S. Tropskaya, Olga V. Razbitskaya</b> Technique for Measuring Electrical Activity of the Brain in Experiments on Laboratory Animals . . . . .	53
<b>Yuriy V. Fokin, Sergey Yu. Kharitonov, Lidiya A. Taboyakova, Nikolay N. Karkischenko</b> Pharmaco-EEG Analysis of the Effect of Acetylcholin and Insulin in Nanoparticles on the Hippocampus of Cats . . . . .	58

## ■ RELEVANT AND ALTERNATIVE BIOMODELLING

<b>Kenes T. Erimbetov, Ruslan A. Zemlyanoy, Alena V. Fedorova, Olga V. Obvintseva</b> Experimental Model to Substantiate the Application of New Biologically Active Substances for Correcting Physiological Processes and Functions . . . . .	66
<b>Dmitry V. Petrov, Alexey A. Ivanov, Elena V. Panina, Natalia V. Petrova, Anastasia E. Sorochan</b> Influence of Hydrogen Water on the Adrenal Glands of <i>Chincilla lanigera</i> . . . . .	71

## ■ PRECLINICAL RESEARCH IN BIOMEDICINE

<b>Veronika A. Prikhodko, Tatyana M. Matuzok, Sergey V. Okovityi</b> Neuromuscular Joint Function Impairment in Leptin-Resistant Mice . . . . .	77
<b>Evgeny B. Shustov, Aleksey E. Kim</b> Safety Profile of a New Dimethylaminoethanol Derivative by Oral Administration to Laboratory Animals . . . . .	82

## ■ BIOMEDICAL TECHNOLOGIES IN CLINICAL RESEARCH

<b>Igor A. Pomytkin, Vladimir V. Pisarev, Mikhail E. Merkulov, Elena B. Kuznetsova, Ekaterina A. Salina, Alexander Yu. Malygin, Nikolay N. Karkischenko</b> Phase II Clinical Trial of Direkord: Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel Group, and Prospective Studies to Select Optimal Dosage and to Study the Efficacy, Safety, and Tolerability in Ischemic Stroke Patients in the Early Recovery Period . . . . .	87
---	----

## ПИЩЕВЫЕ ПРЕДПОЧТЕНИЯ ВОЛЬЕРНОЙ КАБАРГИ СИБИРСКОЙ — ПРОДУЦЕНТА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО СЫРЬЯ

А.М. Зубалий\*, М.М. Гусева

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

В условиях вольерного содержания полноценное сбалансированное кормление является определяющим фактором сохранности поголовья животных, поддержания их здоровья, воспроизводительных функций и повышения продуктивности биологически активных веществ — мускуса кабарги. Установлены закономерности питания в зимний период кабарги сибирской, содержащейся в вольерных условиях питомника филиала «Алтайский» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России: выявлены наиболее предпочитаемые кабаргой виды кормов в зимнем рационе (в среднем, г/гол./сут.: древесные лишайники — 290; берёза повислая — 70; крапива узколистная — 80; овсяная крупа — 70); определены показатели питательности выявленных кормовых объектов; рассчитано содержание обменной энергии и питательных веществ в потребляемом кабаргой суточном рационе (в сутки одна особь потребляет 520 г корма натуральной влажности, или 453 г сухого вещества, что содержит 3,57 МДж обменной энергии). Полученные данные могут стать основой для составления научно-обоснованных рационов кормления кабарги, содержащейся в вольерных условиях.

**Ключевые слова:** *Moschus moschiferus*, кормовые объекты, фактическая поедаемость кормов, питательная ценность, суточный рацион, основные корма

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

**Финансирование:** государственное задание по теме «Разработка концепции и научно-технического обоснования рационального кормления и содержания животных-продуцентов для получения биологически активных веществ для производства фармацевтических субстанций» (шифр: «Питомник-2») ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

**Для цитирования:** Зубалий А.М., Гусева М.М. Пищевые предпочтения вольерной кабарги сибирской — продуцента фармацевтического сырья. *Биомедицина*. 2023;19(3):10–16. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-10-16>

Поступила 19.04.2023

Принята после доработки 13.07.2023

Опубликована 10.09.2023

## FOOD PREFERENCES OF CAPTIVE SIBERIAN MUSK DEER — A PRODUCER OF PHARMACEUTICAL RAW MATERIALS

Anastasiia M. Zubalii\*, Mariya M. Guseva

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

Under the conditions of captivity, adequate and balanced feeding becomes a determining factor in the safety of musk deer, contributing to maintaining the health of animals and their reproductive functions and increasing the productivity of deer musk. In this work, the nutrition patterns of Siberian musk deer in the winter period are established. The animals are kept in the nursery of the Altai Branch of the Scientific Center of Biomedical Technologies of FMBA of Russia. The most preferred feed types in the winter diet

were found to include (on average, g/head per day): wood lichens *Usnea* spp. — 290; *Betula* spp. — 70; *Urtica* spp. — 80; oatmeal — 70). The nutritional indicators of the identified feed objects were determined. The content of metabolizable energy and nutrients in the daily diet consumed by musk deer was calculated. Thus, one individual consumes 520 g of natural moisture feed or 453 g of dry matter, which contains 3.57 MJ of metabolizable energy per day. The obtained data form a scientific basis for developing feeding diets for captive musk deer.

**Keywords:** *Moschus moschiferus*, feed objects, actual feed intake, nutritional value, daily diet, main feeds

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

**Funding:** the research topic “Development of the concept and scientific and technical justification of rational feeding and keeping of producing animals for the production of biologically active substances for the pharmaceutical industry” (code: “Nursery-2”) of state assignment of Scientific Center of Biomedical Technologies of FMBA of Russia.

**For citation:** Zubalii A.M., Guseva M.M. Food Preferences of Captive Siberian Musk Deer — a Producer of Pharmaceutical Raw Materials. *Journal Biomed.* 2023;19(3):10–16. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-10-16>

Submitted 19.04.2023

Revised 13.07.2023

Published 10.09.2023

## Введение

Рациональные приёмы организации полноценного кормления животных-производителей биологически активных веществ в условиях вольерного содержания предусматривают обеспечение животных достаточным количеством энергии и питательных веществ, в соответствии с их потребностями с учётом половозрастных особенностей, физиологического состояния и уровня продуктивности.

Проведение классических балансовых опытов для выявления потребления, переваримости и усвоения питательных веществ корма с кабаргой практически неосуществимо в силу этологических особенностей этого животного — пугливости, легко возбудимой нервной системы, стрессочувствительности к различным воздействиям. Кроме этого, вольеры для кабарги представляют собой огороженные участки природных биотопов с естественной растительностью, которая также потребляется кабаргой в бесснежный период в дополнение к основному корму.

Поэтому основными приёмами для организации и оптимизации кормления кабар-

ги в вольерных условиях на данном этапе являются визуальные наблюдения за поведением животных, учёт количества предлагаемого и оставшегося несъеденным корма, установление закономерностей и причин предпочтения того или иного вида корма и выявление наиболее универсальных и технологически удобных для заготовки и скармливания кормовых объектов, позволяющих удовлетворять потребности кабарги в питательных и биологически активных веществах.

В связи с вышеизложенным **целью работы** было установление закономерностей питания в зимний период кабарги сибирской, содержащейся в вольерных условиях питомника филиала «Алтайский» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

В соответствии с поставленной целью были сформулированы задачи исследования:

1. Выявить наиболее предпочитаемые кабаргой виды кормов в зимнем рационе.
2. Определить показатели питательности выявленных кормовых объектов.
3. Рассчитать содержание обменной энергии и питательных веществ в потребляемом кабаргой суточном рационе.

## Материалы и методы

Исследование проводилось в феврале 2023 г. в питомнике филиала «Алтайский» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, расположенном в Усть-Коксинском районе Республики Алтай.

На основе пищевых привычек дикой кабарги, местных условий растительности, а также принятой в питомнике технологии кормления кабарги для наших экспериментов было выбрано 7 видов кормовых растений, типичных в рационе кабарги сибирской: древесные лишайники рода Уснея (*Usnea* spp.), берёза повислая (*Betula pendula*), бадан толстолистный (*Bergenia crassifolia*), рододендрон даурский (*Rhododendron daurica*), крапива узколистная (*Urtica angustifolia*), красный корень (копеечник) (*Hedysarum* spp.), можжевельник ложноказацкий (*Juniperus pseudosabina*). Указанные растения были собраны на территории, прилегающей к питомнику, и заготовлены в виде высушенных веников. Веники развешивались под навесом над кормушкой. В качестве концентрированного корма в кормушку кабарге давалась овсяная крупа.

Наблюдения проводились за шестью взрослыми особями (три самца и три самки), содержащимися в индивидуальных загонах. Все животные были здоровыми и не проявляли аномального поведения в течение периода наблюдений и после.

На протяжении 7 дней ежедневно учитывалась поедаемость указанных выше кормовых объектов. Каждый веник и порция овсяной крупы взвешивались перед размещением в вольере. Оставшиеся поеди ежедневно убирались, взвешивались и заменялись новыми порциями корма. Раздачу корма и наблюдения начинали в 13:00, и все оставшиеся несъеденные остатки собирали в то же время на следующий день.

После выявления основных наиболее предпочитаемых кабаргой кормовых объектов был проведён зоотехнический ана-

лиз по определению содержания энергии и основных питательных веществ кормов. На основе полученных результатов по поедаемости и питательности зимних кормов кабарги было рассчитано содержание и соотношение энергии и основных питательных веществ рациона. Полученные результаты сопоставлены с предыдущими данными по компонентному и элементному составу кормовых растений Алтайского региона.

## Результаты и их обсуждение

### Поедаемость

Установлено, что кабарга в вольерных условиях в зимний период с устойчивым снежным покровом проявляет сильно выраженную избирательность и предпочтение четырёх (из восьми) видов кормов: древесные лишайники рода Уснея, берёза повислая, крапива узколистная и овсяная крупа. Эти виды кормов поедались кабаргой ежедневно и в значительных количествах, составляя основу их рациона.

Такие растительные корма, как бадан толстолистный, рододендрон даурский, красный корень (копеечник), можжевельник ложноказацкий поедались кабаргой в значительно меньших количествах и не каждый день. Половые различия в потреблении кормов были незначительны.

Наблюдения показывают, что кабарга отличается индивидуальными особенностями потребления различных кормовых объектов. Единственный корм с высокой селективностью и максимальной поедаемостью для всех без исключения особей как в естественных [1, 2, 5], так и в вольерных условиях (по нашим наблюдениям), — это биомасса древесных лишайников. Лишайники даются вместе с ветками, животные самостоятельно их объедают. В условиях эксперимента среднее количество потребляемых кабаргой лишайников в сутки было на уровне 210–350 г (в среднем — 290 г/гол./сут.).

Для кормления кабарги в зимний период с устойчивым снежным покровом в условиях питомника филиала «Алтайский» наиболее хорошо зарекомендовали себя корм из высушенных облиственных побегов берёзы повислой (*Betula pendula*) и крапивы узколистной (*Urtica angustifolia*) в виде веников. Кабарга поедает листья и наиболее тонкие части побегов. При этом количество съеденных листьев крапивы и берёзы составляет в пределах 50–70 г на особь в сутки.

Для повышения энергетической питательности рационов для кабарги в литературе рекомендуется скармливание овсяной крупы [2, 5]. Наши исследования показывают, что кабарга с трудом привыкает к этому виду корма; для многих особей, даже после привыкания, потребление крупы остаётся на низком уровне (от 40 до 70–80 г/сут.).

#### Питательность кормов

Основные корма рациона, к которым кабарга проявила максимальную селективность и поедаемость, были проанализированы на содержание питательных веществ (сырой протеин, сырой жир, сырая клетчатка, нейтрально-детергентная клетчатка, кислотнo-детергентная клетчатка, сырая

зола). Расчётным путём по уравнениям регрессии для жвачных животных были определены показатели обменной энергии, содержание гемицеллюлозы и неструктурных углеводов, а также переваримости органической массы корма и усвоения сухого вещества корма в рубце (табл. 1).

Расчётные формулы:

$$ОЭ = [0,02 \times СП + 0,02 \times СЖ + 0,0015 \times СК + 0,01 \times БЭВ] \times 10 \text{ (на 1 кг корма);}$$

$$ГЦ = НДК - КДК;$$

$$НСУ = 100 - (СП + СЖ + СЗ + НДК);$$

$$ПОМ = 87,6 - 0,81 \times СК;$$

$$УСВ = 88,9 - КДК \times 0,779;$$

где: ОЭ — обменная энергия; СП — сырой протеин; СЖ — сырой жир; СК — сырая клетчатка; БЭВ — безазотистые экстрактивные вещества; ГЦ — гемицеллюлоза; НДК — нейтрально-детергентная клетчатка; КДК — кислотнo-детергентная клетчатка; НСУ — неструктурные углеводы; СЗ — сырая зола; ПОМ — переваримость органической массы; УСВ — усвояемость сухого вещества в рубце.

Хотя в литературе [1, 2] встречается мнение о том, что лишайники являются высокопитательным кормом, превосходящим другие растительные корма по содержанию

**Таблица 1.** Питательность основных кормов вольерной кабарги в зимний период

**Table 1.** Nutritional value of the main feeds of the captivity musk deer in winter

Показатели	Кормовые объекты			
	Лишайник древесный	Крапива (побеги)	Берёза (листья)	Овсяная крупа
Обменная энергия, МДж/кг	4,69	8,28	9,95	11,52
Абсолютно сухое вещество (АСВ), %	85,47	91,01	90,03	87,23
Сырой протеин, % в АСВ	4,34	20,27	13,42	15,24
Сырой жир, % в АСВ	0,67	4,32	6,92	5,93
Сырая клетчатка, % в АСВ	65,16	12,31	15,99	6,35
Нейтрально-детергентная клетчатка, % в АСВ	83,8	12,95	28,88	13,22
Кислотнo-детергентная клетчатка, % в АСВ	66,96	6,98	16,76	7,05
Гемицеллюлоза, % в АСВ	16,84	5,97	12,12	6,17
Неструктурные углеводы, % в АСВ	8,22	55,49	45,19	63,63
Сырая зола, % в АСВ	2,97	6,97	5,59	1,98
Переваримость органической массы корма, %	34,82	77,63	74,65	82,46
Усвояемость сухого вещества в рубце, %	36,74	83,46	75,84	83,41

обменной энергии, жиров и легкоусвояемых БЭВ, результаты наших исследований показывают иную картину. В биомассе лишайника установлено минимальное содержание легкопереваримых веществ, таких как протеин, жир, легкопереваримые неструктурные углеводы, при максимальном содержании всех видов клетчатки и гемицеллюлозы. Как следствие, лишайниковый корм отличается минимальной переваримостью и усвояемостью сухого вещества.

Это противоречит выводам китайских коллег о том, что кабарга проявляет пищевую избирательность в пользу растений с высоким содержанием белка и низким содержанием клетчатки [3, 4]. Однако известно, что для жвачных животных очень важно оптимальное количество клетчатки в поедаемом корме. При дефиците сырой клетчатки в рационах у жвачных животных возникает расстройство рубцового пищеварения, развивается лактатный ацидоз и комплекс сопутствующих патологий, а кроме того, снижается воспроизводительная способность.

#### Питательность суточного рациона

На основе полученных данных по фактической поедаемости был составлен зимний рацион для кабарги в вольерных услови-

ях из тех видов корма, которые поедались кабаргой в максимальном количестве (табл. 2).

Общее количество потребляемых кормов в сутки составляет 520 г натуральной влажности, что соответствует 453 г в сухом веществе для каждой особи.

За счёт лишайника обеспечивается почти 40% обменной энергии рациона, 57% сухого вещества, 44% сырой золы и 88% сырой клетчатки. Такая структура фактически поедаемого зимнего рациона свидетельствует о важности лишайников как кормовых объектов для вольерной кабарги.

В данном варианте рациона не учтена витаминная и минеральная питательность кормов. Эти показатели очень вариабельны, и определение содержания витаминов и минеральных веществ в кормовой базе на рутинной основе может быть экономически нецелесообразно. В связи с этим в питомнике применяется обогащение рационов вольерной кабарги минерально-витаминными и другими биологически активными добавками в составе солевых брикетов-лизунцов.

Солевые брикеты на основе натрия хлорида размещаются у кабарги в кормушках и потребляются животными по мере необходимости. По нашим данным, среднее по-

**Таблица 2.** Питательность суточного рациона кабарги в питомнике в зимний период  
**Table 2.** Nutritional value of the daily diet of the captivity musk deer in winter

Показатели	Кормовые объекты				Итого в рационе
	Лишайник древесный	Крапива (побеги)	Берёза (листья)	Овсяная крупа	
Количество, г	300	80	70	70	520
Обменная энергия, МДж	1,41	0,66	0,7	0,81	3,58
Абсолютно сухое вещество, г	256,4	72,8	63	61,1	453,3
Сырой протеин, г	11,1	14,8	8,5	9,3	43,7
Сырой жир, г	1,7	3,1	4,4	3,6	12,8
Сырая клетчатка, г	167,1	9	10,1	3,9	190,1
Нейтрально-детергентная клетчатка, г	214,9	9,4	18,2	8,1	250,6
Кислотно-детергентная клетчатка, г	171,7	5,1	10,6	4,3	191,7
Гемицеллюлоза, г	43,2	4,3	7,6	3,8	58,9
Неструктурные углеводы, г	21,1	40,4	28,5	38,9	128,9
Сырая зола, г	7,6	5,1	3,5	1,2	17,4

требление соли-лизунца без добавок (99% NaCl) взрослыми особями кабарги составляет примерно 3,5 г в неделю, что соответствует 0,5 г/гол./сут.

Также нами было проанализировано потребление кабаргой лечебно-профилактической антигельминтной соли с добавлением 1% фенотиазина. Соль, обогащённую фенотиозином, размещали в кормушке после недельной бессолевой диеты. Результаты показывают, что поедаемость поваренной соли с добавлением фенотиазина не изменяется и остаётся на том же незначительном уровне.

## Выводы

Основу рациона вольерной кабарги питомника филиала «Алтайский» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России в зимний период составляют четыре вида кормов: древесные лишайники рода Уснея, берёза повислая, крапива узколистная и овсяная крупа, которые поедаются животными ежедневно.

Среднее потребление корма одной особью кабарги составляет в сутки 520 г нату-

ральной влажности (453 г сухого вещества), что соответствует 3,57 МДж обменной энергии.

Количество потребляемых кабаргой древесных лишайников в сутки в среднем составляет 290 г/гол./сут. (40% энергетической питательности рациона); средняя поедаемость листьев и наиболее тонких частей побегов крапивы и берёзы — 80 и 70 г/гол./сут. (18,5 и 19,6% обменной энергии суточного рациона соответственно), овсяная крупа потреблялась кабаргой в количестве от 40 до 80 г в сутки (в среднем — 70 г, или 22,7% по содержанию энергии).

Полученные данные могут стать основой для составления научно-обоснованных рационов кормления кабарги, содержащейся в вольерных условиях. Это позволит удовлетворять потребности кабарги в питательных и биологически активных веществах для сохранения здоровья, воспроизводительных функций и получения качественного мускуса.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Доманов Т.А. *Экология кабарги Moschus moschiferus (Linnaeus, 1758) хребта Тукурингра*: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 2013:22. [Domanov T.A. *Ekologiya kabargi Moschus moschiferus (Linnaeus, 1758) khrebtu Tukuringra: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk [Ecology of the musk deer Moschus moschiferus (Linnaeus, 1758) of the Tukuringra ridge: abstract of dis. ... of cand. sci. (biol.)]. Irkutsk, 2013:22. (In Russian)].*
2. Приходько В.И. *Кабарга: ресурсы, сохранение вида в России*. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2021:203. [Prihod'ko V.I. *Kabarga: resursy, sokhranenie vida v Rossii [Musk deer: Resources, conservation of the species in Russia]*. Moscow: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK Publ., 2021:203. (In Russian)].
3. He L., Li L.-H., Wang W.-X., Liu G., Liu H.-Q., Liu W.-H., Hu D. Welfare of farmed musk deer: Changes in the biological characteristics of musk deer in farming environments. *Applied Animal Behaviour Science*. 2014;156:1–5. DOI: 10.1016/j.applanim.2014.03.011.
4. Wang W., He L., Liu B., Li L., Wei N., Zhou R., Qi L., Liu Sh., Hu D. Feeding performance and preferences of captive forest musk deer while on a cafeteria diet. *Folia Zoologica*. 2015;64(2):151–160. DOI: 10.25225/fozo.v64.i2.a8.2015.
5. Wang W., Zhou R., He L., Liu S., Zhou J., Qi L., Li L., Hu D. The progress in nutrition research of musk deer: Implication for conservation. *Applied Animal Behaviour Science*. 2015;172:1–8. DOI: 10.1016/j.applanim.2015.09.006.

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS**

---

**Зубалий Анастасия Михайловна\***, к.б.н., доц.,  
ФГБУН «Научный центр биомедицинских тех-  
нологий ФМБА России»;  
[e-mail: amzubaliy@gmail.com](mailto:amzubaliy@gmail.com)

**Anastasiia M. Zubalii\***, Cand. Sci. (Biol.), Assoc.  
Prof., Scientific Center of Biomedical Technologies  
of the Federal Medical and Biological Agency  
of Russia;  
[e-mail: amzubaliy@gmail.com](mailto:amzubaliy@gmail.com)

**Гусева Мария Михайловна**, ФГБУН «Научный  
центр биомедицинских технологий ФМБА  
России»;  
[e-mail: borisova\\_mm@mail.ru](mailto:borisova_mm@mail.ru)

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

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-17-22>



## РЕКОМБИНАНТНЫЙ МИОСТАТИН: ВЫДЕЛЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ВАКЦИНАХ

Е.М. Колоскова\*, В.А. Езерский

*Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии,  
биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский  
центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»  
249013, Российская Федерация, Калужская обл., Боровск, п. Институт*

Белок миостатин является не только потенциальной мишенью для терапевтического воздействия при патологиях мышечной системы, но и инструментом для биотехнологического регулирования мясной продуктивности сельскохозяйственных животных. Блокирование действия миостатина может достигаться индукцией синтеза аутоантител при использовании рекомбинантного миостатина (рМСТ) как антигена. Был получен штамм-продуцент *E. coli* B121/pET28-MSTN с высоким уровнем экспрессии рекомбинантного белка в тельцах включения. Очищенный рМСТ был использован для иммунизации овец и кроликов. С использованием созданной ИФА тест-системы для детекции антител к миостатину в крови овец было показано, что рМСТ иммуногенен (рабочий титр сывороток — 1/400–1/800). В результате вакцинации кроликов за месячный период наблюдалась тенденция к повышению средней массы тела и среднесуточному привесу у животных опытных групп по сравнению с контрольной.

**Ключевые слова:** рекомбинантный миостатин, *Escherichia coli*, аутоантитела, ПААГ-электрофорез, ИФА, титр антител, кролики, среднесуточный привес

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

**Для цитирования:** Колоскова Е.М., Езерский В.А. Рекомбинантный миостатин: выделение и использование в вакцинах. *Биомедицина*. 2023;19(3):17–22. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-17-22>

Поступила 22.04.2023

Принята после доработки 16.06.2023

Опубликована 10.09.2023

## RECOMBINANT MYOSTATIN: ISOLATION AND USE IN VACCINES

Elena M. Koloskova\*, Vadim A. Ezerskiy

*All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of Animals —  
Branch of the Federal Science Center for Animal Husbandry — All-Russian Institute  
of Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst  
249013, Russian Federation, Kaluga Region, Borovsk, Institute Village*

Protein myostatin is not only a potential target for therapeutic effects in pathologies of the muscular system, but also a tool for biotechnological regulation of the meat productivity of farm animals. The action of myostatin can be blocked by inducing autoantibody synthesis using recombinant myostatin (rMST) as an antigen. *E. coli* producer strain B121/pET28-MSTN was obtained with a high level of recombinant protein expression in inclusion bodies. Purified rMST was used to immunize sheep and rabbits. Using the created ELISA test system for the detection of antibodies to myostatin in the blood of sheep, it was shown that rMST is immunogenic (the working titer of sera is 1/400–1/800). As a result of vaccination of rabbits over a monthly period, the average body weight and average daily weight gain in animals of the experimental groups was observed to increase compared to the control group.

**Keywords:** recombinant myostatin, *Escherichia coli*, autoantibodies, PAAG electrophoresis, ELISA analysis, antibody titer, rabbits, average daily weight gain

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

**For citation:** Koloskova E.M., Ezerskiy V.A. Recombinant Myostatin: Isolation and Use in Vaccines. *Journal Biomed.* 2023;19(3):17–22. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-17-22>

Submitted 22.04.2023

Revised 16.06.2023

Published 10.09.2023

## Введение

Продукт экспрессии гена *MSTN*, белок миостатин, является одним из отрицательных регуляторов роста скелетных мышц: ингибирует синтез белков в мышцах, дифференцировку и пролиферацию миоцитов [4]. Недостаток миостатина или блокировка его действия приводит не только к увеличению мышечной массы, но и повышению силовых характеристик скелетных мышц. Аминокислотная последовательность миостатина идентична у многих видов животных. Рекombинантный миостатин (pMCT) как иммуноген в составе вакцин может быть использован для повышения мясной продуктивности сельскохозяйственных животных (крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, лошади, кролики), птицы. В настоящее время активно разрабатываются способы ингибирования активности миостатина на разных уровнях [6], один из которых — системное введение антител против миостатина. С другой стороны, оценивается возможность использования pMCT индуцировать синтез специфических антител (аутоантител) против эндогенного белка [7].

Ранее нами был получен штамм-продуцент *E. coli* Bl21/pET28-MSTN, при индукции которого реагентом ИПТГ наблюдали высокий уровень экспрессии рекомбинантного белка [1, 2]. В составе генетической конструкции использовали оптимизированную для синтеза в *E. coli* нуклеотидную последовательность, кодирующую белок зрелого миостатина.

Основной **целью** исследований настоящего этапа являлось изучение иммуноген-

ности полученного рекомбинантного белка и подбор условий иммунизации животных.

## Материалы и методы

### Очистка рекомбинантного белка

ИПТГ-индуцированную культуру штамма-продуцента pMCT *E. coli* BL21(DE3) центрифугировали, осадок ресуспендировали в лизирующем буфере (50 мМ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 300 мМ NaCl, 10 мМ имидазол; pH=8,0), охлаждали на льду, вносили лизозим до 1 мг/мл. Смесь инкубировали на льду 30 мин, обрабатывали ультразвуком. Суспензию центрифугировали при 10 000 g, 10 °C, 35 мин. Осадок ресуспендировали в денатурирующем буфере с высоким содержанием мочевины (20 мМ Tris-HCl, 0,5 М NaCl, 8 М мочевина, 20 мМ имидазол, 5 мМ 2-меркаптоэтанол; pH=7,9), обрабатывали ультразвуком, центрифугировали. Осветлённый лизат вносили в колонку с Ni-сефарозой, уравновешенную тем же буфером. Носитель со связанным белком промывали до выхода ОП280 на плато. pB последовательно снимали тем же буфером с возрастающим содержанием имидазола 50, 200 и 500 мМ.

Диализ раствора pB проводили в течение суток при 8 °C против двух буферов: ФБС (20 мМ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0,15 М NaCl; pH=7,4) и бикарбонатного буфера (0,1 М  $\text{NaHCO}_3$ ; pH=9,5) с использованием диализных мембран с размером пор 12–14 кДа. Содержимое диализных мешков центрифугировали, определяли ОП280 в осадке и растворе и методом Брэдфорда. Наличие и чистоту pMCT определяли методом

ПААГ-SDS электрофореза (12,5%), белки окрашивали Coomassie Blue R-250.

#### **Компоненты для определения титра антител к миостатину**

*Сорбент Сефароза CL4B с иммобилизованным IgG овцы.* Из сыворотки крови овцы с использованием сорбента с иммобилизованным G-белком выделяли IgG овцы (ovIgG). Полученным ovIgG иммунизировали кроликов и готовили сорбент Сефароза CL4B-ovIgG для связывания анти-овечьих антител.

*Очистка антител «кролик-анти-овца».* Из сыворотки иммунизированных ovIgG кроликов на сорбенте Сефароза CL4B-ovIgG были аффинно очищены антитела кролика против IgG овцы: «кролик-анти-овца». Был получен конъюгат антител «кролик-анти-овца» с пероксидазой хрена (ПХ), оценено качество конъюгата, подобрано его рабочее разведение для ИФА.

#### **Иммунизация животных**

В эксперименте использовали овец романовской породы возрастом 1–1,5 года и самцов кроликов калифорнийской породы возрастом 6–7 мес. Все животные содержались в условиях вивария ВНИИФиП на соответствующих стандартных рационах. Очищенный рМСТ, растворенный в буфере с 8 М мочевиной, разводили физ. р-ром до нужной концентрации и смешивали с одним из адъювантов (1:1) — гель гидроксида алюминия (ГА), полный адъювант Фрейнда (ПАФ), неполный адъювант Фрейнда (НАФ). Доза антигена для овец составляла 1 мг/гол., для кроликов — 0,5 мг. Кровь для получения сыворотки брали у овец из яремной вены, у кроликов — из ушной вены в пробирки с активатором свёртывания. В сыворотке крови овец и кроликов определяли титр антител к миостатину. Животных взвешивали согласно схеме исследования.

#### **Результаты исследований**

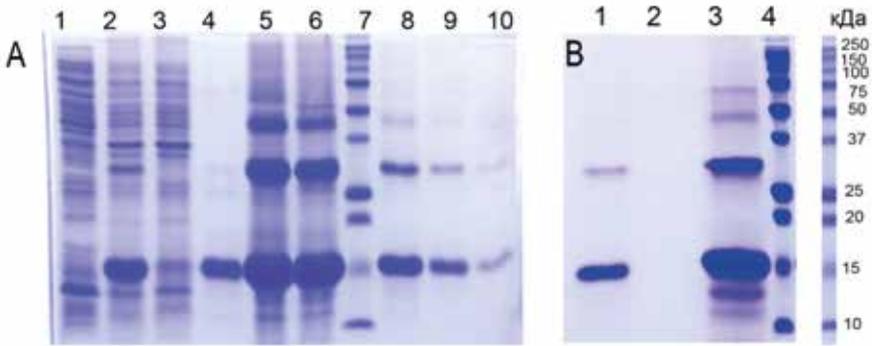
Наличие в рекомбинантном белке (РБ) полигистидиновой последовательности

(6xHis) позволяет производить его очистку с помощью Ni-сефарозы (агарозы). Образование нерастворимых телец включения является одной из проблем получения РБ в клетках *E. coli* [3]. В денатурирующих условиях 6xHis тэг становится полностью доступен для связывания с Ni-сефарозой, уменьшается вероятность неспецифического взаимодействия сорбента с другими белками. При выделении РБ из телец включения при жёстких денатурирующих условиях они остаются пригодными для иммунизации и получения антител [5].

#### **Очистка и оценка растворимости рМСТН**

Нативный лизат бактериальной культуры, полученный после обработки лизоцимом, ультразвуковой гомогенизации и центрифугирования, практически не содержал РБ (рис., А, дорожка 1). РБ в виде телец включения находился в осадке и растворялся только в денатурирующих условиях в буфере с 8 М мочевиной и обработкой ультразвуком (рис., А, дорожка 2). Осветлённый центрифугированием лизат, содержащий большое количество РБ, пропускали через Ni-колонку. Связанный с носителем рМСТ последовательно снимали буфером с возрастающей концентрацией имидазола — от 50 до 500 мМ (дорожки 4–6, 8–10). В проскоке лизата оставалось незначительное количество рМСТ (дорожка 3). Помимо мономеров рМСТ (около 16 кДа), очищенный белок был представлен в димерной (32 кДа) и даже в тримерной форме (около 48 кДа).

Диализ очищенного рМСТ (рис., В, дорожка 1) проводили с целью перевести РБ в растворенном виде в один из стандартных буферов, используемых в т. ч. для выполнения ИФА. Как оказалось, в PBS и в бикарбонатном буфере рМСТ нерастворим: в надосадочной жидкости содержимого диализного мешка белок не обнаружен (дорожка 2). Весь рМСТ находился в осадке (дорожка 3). Наблюдалась тенденция



**Рис.** ПААГ-SDS электрофорез (15%): А — образцы, взятые на разных стадиях очистки рМСТ; В — диализ рМСТ, выделенного при денатурирующей очистке. Дорожки А7, В5 — маркер белковых масс.

**Fig.** PAAG-SDS electrophoresis (15%): А — samples taken at different stages of purification of rMST; В — dialysis of rMST isolated during denaturing purification. Lines А7, В5 — a marker of protein masses.

к полимеризации рМСТ, проявившаяся в появлении полос, соответствующих ди-, три- и тетрамерам (32 кДа, 48 кДа и 64 кДа), и к частичному гидролизу белка (появление полос с массой ниже, чем у мономера).

#### **ИФА тест-система, иммунизация животных**

На основе полученного рМСТ и аффинно очищенных антител «кролик-анти-IgG овцы», конъюгированных с ПХ, была создана ИФА тест-система (непрямой вариант) для оценки антител к миостатину в биологических жидкостях овец, иммунизированных рМСТ. Было определено рабочее разведение конъюгата: 1/25000–1/50000. Кроме того, используя в качестве вторых антител ПХ-конъюгаты других видоспецифичных антител, например, «коза-анти-кролик», можно определять антительный ответ у других животных, иммунизированных рМСТ, например, у кроликов.

Иммунизация овец показала, что рМСТН обладает иммуногенной активностью. Оптимальное разведение сывороток для ИФА было в 400–800 раз. ОП сывороток иммунизированных животных была в 4–15 раз выше, чем у контрольных. Титр существенно зависел от используемого адъ-

юванта и места введения антигена: самый высокий титр был при подкожной иммунизации с ПАФ, самый низкий — при внутримышечном введении рМСТ с гелем гидроксида алюминия.

При иммунизации кроликов достоверных различий в набранной за месяц экспериментальной массе между животными контрольной и опытных групп не было обнаружено, однако средняя масса и среднесуточные привесы у животных опытных групп были выше, чем у кроликов контрольной группы (табл.). Максимальный рост кроликов приходится на 1,5–4-месячный возраст, и именно в этом возрасте, по-видимому, иммунизация рМСТ была бы наиболее эффективна.

#### **Закключение**

Аминокислотная последовательность миостатина идентична у всех сельскохозяйственных животных. Рекombинантный миостатин (рМСТ) как иммуноген в составе вакцин может быть использован для повышения мясной продуктивности сельскохозяйственных животных (крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот, свиньи, лошади, кролики), птицы.

**Таблица.** Изменение массы тела и среднесуточных привесов кроликов после иммунизации рМСТ  
**Table.** Changes in body weight and average daily weight gain of rabbits after immunization of rMST

Параметр	Группы кроликов			
	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
	Контроль	ГА п/к	ГА в/м	Масло (монтанид) п/к
Кол-во животных	6	6	6	6
Масса тела в 1-е сут. (иммунизация), кг	4,04±0,38	4,04±0,17	4,05±0,3	4,03±0,13
Масса тела через 14 сут. после иммунизации, кг	4,17±0,43	4,28±0,22	4,24±0,28	4,23±0,15
Среднесуточный привес за 14 сут., г	10	17	14	14
Масса тела через 28 сут. после иммунизации, кг	4,20±0,52	4,43±0,19	4,33±0,24	4,34±0,13
Среднесуточный привес за 28 сут., г	6	14	10	11

С использованием технологии рекомбинантных ДНК нами был создан штамм-продуцент *E. coli* BL21/pET28-MSTN с высоким уровнем экспрессии рМСТ.

В экспериментах на овцах было показано, что рМСТ обладает достаточной иммуногенностью и индуцирует синтез специфических аутоантител к миостатину. При иммунизации кроликов калифорнийской породы

рМСТ у животных всех опытных групп наблюдали прирост массы тела и среднесуточный прирост выше, чем у контрольных кроликов. Показано, что вакцины с рМСТ потенциально могут быть использованы для индукции синтеза специфических аутоантител к эндогенному миостатину с целью блокирования его действия и стимуляции роста мышечной ткани у разных видов животных

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Колоскова Е.М., Езерский В.А., Жукова О.Б. Получение бактериального рекомбинантного миостатина для индуцирования синтеза специфических к миостатину аутоантител. *Биомедицина*. 2022;18(3):22–26. [Koloskova E.M., Ezerskiy V.A., Zhukova O.B. Poluchenie bakterial'nogo rekombinantnogo miostatina dlya indutsirovaniya sinteza spetsificheskikh k miostatinu autoantitel [Preparation of bacterial recombinant myostatin to induce the synthesis of myostatin-specific autoantibodies]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2022;18(3):22–26. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-18-3-22-26.
2. Колоскова Е.М., Езерский В.А., Жукова О.Б. На пути к разработке биотехнологических методов повышения мясной продуктивности животных: получение бактериального штамма-продуцента рекомбинантного миостатина. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2022;4:49–60. [Koloskova E.M., Ezerskiy V.A., Zhukova O.B. Na puti k razrabotke bioinzhenernykh metodov povysheniya myasnoy produktivnosti zhivotnykh: poluchenie bakterial'nogo shtamma-produtsenta rekombinantnogo miostatina [Towards the development of bioengineering methods to enhance meat productivity of animals: Constructing a bacterial strain producing recombinant myostatin]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh [Problems of Productive Animal Biology]*. 2022;4:49–60. (In Russian)].
3. Baneyx F., Mujacic M. Recombinant protein folding and misfolding in *Escherichia coli*. *Nat. Biotechnol.* 2004;22(11):1399–1408. DOI: 10.1038/nbt1029.
4. Chen M.M., Zhao Y.P., Zhao Y., Deng S.L., Yu K. Regulation of myostatin on the growth and development of skeletal muscle. *Front. Cell. Dev. Biol.* 2021;9:785712. DOI: 10.3389/fcell.2021.785712.
5. Makrides S.C. Strategies for achieving high-level expression of genes in *Escherichia coli*. *Microbiol. Rev.* 1996;60(3):512–538. DOI: 10.1128/mr.60.3.512-538.1996.
6. Nielsen T.L., Vissing J., Krag T.O. Antimyoostatin treatment in health and disease: The story of great expectations and limited success. *Cells*. 2021;10(3):533. DOI: 10.3390/cells10030533.
7. Xu Y., Mao L., Zheng Y. Prokaryotic expression and immunogenicity analysis of yak recombinant myostatin. *Anim. Biotechnol.* 2012;23(4):253–260. DOI: 10.1080/10495398.2012.722157.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Колоскова Елена Михайловна\***, к.б.н., Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»;  
**e-mail: [heleko3@yandex.ru](mailto:heleko3@yandex.ru)**

**Elena M. Koloskova\***, Cand. Sci. (Biol.), All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of Animals — Branch of the Federal Science Center for Animal Husbandry — All-Russian Institute of Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst;  
**e-mail: [heleko3@yandex.ru](mailto:heleko3@yandex.ru)**

**Езерский Вадим Аркадьевич**, Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»;  
**e-mail: [ez.vadim@yandex.ru](mailto:ez.vadim@yandex.ru)**

**Vadim A. Ezerskiy**, All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of Animals — Branch of the Federal Science Center for Animal Husbandry — All-Russian Institute of Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst;  
**e-mail: [ez.vadim@yandex.ru](mailto:ez.vadim@yandex.ru)**

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ КАЛЬЦИЕВОГО ГОМЕОСТАЗА НА УРОВНЕ ГАСТРО-ЭНТЕРАЛЬНОЙ СРЕДЫ У МИНИ-ПИГОВ

Д.А. Ксенофонтов\*, А.А. Ксенофонтова

ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К.А. Тимирязева»  
127434, Российская Федерация, Москва, ул. Тимирязевская, 49

В эксперименте на мини-пигах исследованы этапы метаболизма кальция на уровне энтеральной среды. Методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии определена концентрация кальция в эндогенных и экзогенных структурах химуса по мере его прохождения в тонком и толстом отделах кишечника, в разных слоях стенки кишечника и в крови, притекающей и оттекающей от кишечника. Установлены закономерности изменения концентрации кальция во фракциях химуса и о его преобладающей аккумуляции в плотной эндогенной фракции в тонком отделе кишечника. С учётом гидратации гликопротеинов полостной слизи и её существования в виде своеобразной энтероплазмы химуса предполагается участие кальция в формировании эндогенных структур и химуса в целом путём перераспределения между растворимыми и фиксированными формами элемента. Выявлена динамика увеличения концентрации кальция в слое слизистых наложений от дистального к проксимальному отделу стенки кишечника. В слизистом эпителии кишечника концентрация кальция в целом ниже, но динамика имеет сходную картину. Артериовенозная разница на уровне пищеварительного тракта свидетельствует о преобладании экскреции элемента в пищеварительную полость. Делается заключение о роли эндогенных структур химуса в поддержании кальциевого гомеостаза не только в гастроэнтеральной среде, но и организма в целом.

**Ключевые слова:** кишечник, кальций, химус, слизистая оболочка, кровь, гомеостаз

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

**Для цитирования:** Ксенофонтов Д.А., Ксенофонтова А.А. Метод изучения кальциевого гомеостаза на уровне гастро-энтеральной среды у мини-пигов. *Биомедицина*. 2023;19(3):23–28. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-23-28>

Поступила 11.04.2023

Принята после доработки 03.07.2023

Опубликована 10.09.2023

## METHOD FOR STUDYING CALCIUM HOMEOSTASIS AT THE LEVEL OF GASTROENTERAL ENVIRONMENT IN MINIPIGS

Dmitriy A. Ksenofontov\*, Anzhelika A. Ksenofontova

Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy  
127434, Russian Federation, Moscow, Timiryazevskaya Str., 49

The stages of calcium metabolism at the enteric medium level were studied in experiments on minipigs. Atomic absorption spectrophotometry was used to determine the concentration of calcium in the endogenous and exogenous structures of the chyme while its passing through the small and large intestines, both in different layers of the intestinal wall and in the blood flowing in and out of the intestine. Regularities of changes in calcium concentration in chyme fractions and its predominant accumulation in the dense endogenous fraction in the small intestine were established. Taking into account the hydration of the glycoproteins of the abdominal mucus and its existence in the form of a kind of enteroplasm of the chyme, it is assumed that calcium is involved in the formation of endogenous structures and chyme as a whole by

redistributing between soluble and fixed forms of the element. The dynamics of the increase in calcium concentration in the layer of mucous deposits from the distal to the proximal section of the intestinal wall was revealed. In the intestinal mucosa, the calcium concentration is generally lower, although the dynamics follows a similar pattern. The arterio-venous difference in the damage of the digestive tract indicates the predominant excretion of the element into the digestive cavity. The conclusion is made about the role of endogenous chyme structures in maintaining calcium homeostasis not only in the gastroenteric environment, but also in the body as a whole.

**Keywords:** intestines, calcium, chyme, mucous membrane, blood, homeostasis

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

**For citation:** Ksenofontov D.A., Ksenofontova A.A. Method for Studying Calcium Homeostasis at the Level of Gastroenteral Environment in Minipigs. *Journal Biomed.* 2023;19(3):23–28. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-23-28>

*Submitted 11.04.2023*

*Revised 03.07.2023*

*Published 10.09.2023*

## Введение

Одним из наиболее важных элементов в организме является кальций, который прямо или опосредованно участвует во всех физиологических процессах. Хорошо известно, что алиментарная недостаточность кальция либо патология его обмена приводят к остеомалации или остеопорозу, вызванному одновременной резорбцией минерального и органического компонентов, нарушается передача нервного импульса и мышечное сокращение, свёртывание крови и секреция желёз, дифференцировка и гибель клеток, реализация иммунного ответа [6]. Избыток кальция в рационе может оказаться не менее вредным, хотя в практических условиях такая ситуация маловероятна. Возникающий при нарушениях метаболизма кальция симптоматический комплекс может проявляться снижением продуктивности и нарушением воспроизводительной функции [1].

Несмотря на то, что механизмы абсорбции и поддержания гомеостаза кальция на уровне внутренней среды организма изучены весьма подробно, вопрос о его обмене в полости пищеварительного тракта исследован недостаточно [5, 7]. Концепция постоянства состава химуса и сведения о механизмах, обеспечивающих его гомео-

стазирование, показывает, что энтеральная среда должна сохранять относительно стабильный состав и соотношение масс его ингредиентов, а недостаток веществ в химусе может быть экскретирован из внутренней среды организма. При этом новая концепция о структурно-функциональной организации полости пищеварения указывает на важную роль эндогенных компонентов гастроэнтеральной среды как в обеспечении гомеостазирования химуса, так и в процессах его формирования [2].

**Цель работы** — выявление закономерностей метаболизма кальция на уровне пищеварительного тракта при участии эндогенных структур химуса.

## Материалы и методы

Для изучения метаболизма минеральных элементов на уровне гастроэнтеральной среды был проведён эксперимент на мини-пигах светлогорской популяции на базе ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Предварительно по животным собирался анамнез и проводился клинический осмотр. Условия содержания мини-пигов соответствовали требованиям ветеринарно-санитарных и зоотехнических норм. Для эксперимента была отобрана группа

из четырёх хряков в возрасте 1,5 года и массой 22 кг, получавших полнорационный комбикорм СК-1-18. Животных подвергали общей анестезии препаратом «Золетил 100» с фиксацией на операционном столе в спинном положении. Местная анестезия проводилась подкожно вдоль белой линии брюшной полости подкожно р-ром лидокаина. Под наркозом делали разрез брюшной стенки по белой линии, извлекали брыжейку кишечника, шприцом отбирали артериальную кровь из аорты (*a. abdominalis*) и венозную кровь из желудочной вены (*v. gastrica sinistra*), дуоденальной (*v. duodenalis*), брыжеечной (*v. jejunalis*), вены слепой кишки (*v. colica decstra*), ободочной кишки (*v. caecalis*) и общую венозную кровь из воротной вены печени (*v. portae hepatis*) и каудальной полой вены (*v. cava caudalis*). Затем производили эвтаназию животных путём введения токсичной дозы анестетика. Далее извлекали ЖКТ и брали образцы химуса и стенки из отделов тонкого и толстого кишечника. Химус по разработанной методике фракционировали на пищевые частицы (ПЧ), растворимую (РФ) и плотную эндогенную фракцию (ПЭФ), изменяя реологические показатели химуса путём разведения растворителем с последующим декантированием и центрифугированием супернатанта в течение 10 мин при скорости 5000 об./мин [4].

В стенке каждого отдела тонкого и толстого кишечника выделяли слой слизистых наложений (ССН) по методике, основанной на механической вибрации, в результате которой отделяется поверхностный и относительно рыхло связанный слой слизистых наложений без отслоения самого эпителиального пласта. Полученный супернатант центрифугировали 10 мин при скорости 5000 об./мин. В результате в осадок переходит ССН [3]. Участок кишки после отделения слизистых наложений разделяли, делая соскоб шпателем слизистого слоя (СС) ки-

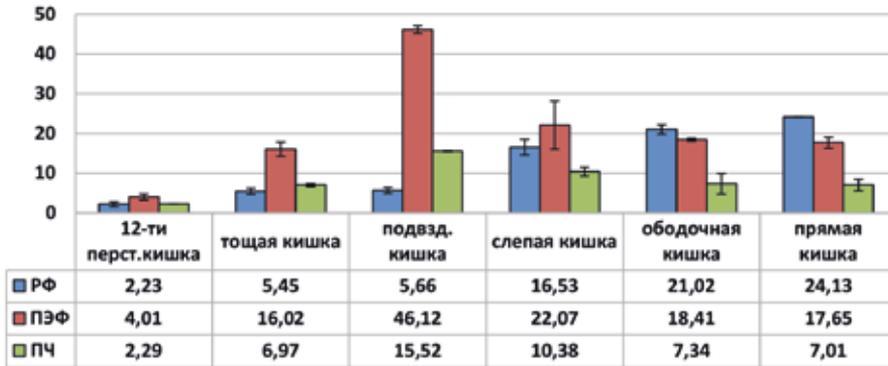
шечной стенки и очищая серозно-мышечный слой (СМС).

Во всех образцах определяли содержание кальция методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии на приборе «Спектр 5-4». Результаты обработаны статистически с помощью программы MS Office Excel.

## Результаты и их обсуждение

Мини-пиги — сравнительно новый вид лабораторных животных, генетически близкий человеку, пищеварение которых видоспецифично на уровне желудка и толстого отдела кишечника, где велика роль симбиотических микроорганизмов. Минеральный анализ компонентов химуса у мини-пигов показал, что уже начиная с двенадцатиперстной кишки кальций кумулируется в ПЭФ, а его концентрация в ней увеличивается в 11,5 раза, с 4 до 46 г/кг сухого вещества в дистальном отделе тонкой кишки, при этом количество растворимого кальция становится минимальным (рис. 1). В толстом отделе кишечника у мини-пигов кальций равномерно распределён между ПЭФ и РФ на уровне 17–24 г/кг сухого вещества. Динамика кальция в ПЧ указывает на увеличение концентрации в дистальном направлении тонкого кишечника с 2,3 до 15 г/кг сухого вещества вследствие опережающего гидролиза органической части, а начиная со слепой кишки, где активизируются симбиотические микроорганизмы, концентрация элемента в ПЧ вновь снижается до 7 г/кг сухого вещества вследствие активного гидролиза нутриентов.

Анализ соотношения минеральных элементов в ПЭФ химуса мини-пигов показал, что в двенадцатиперстной, тощей, подвздошной, слепой, ободочной и прямой кишке на долю кальция приходится 50,3%, 65,8%, 68%, 57%, 53% и 57,3% соответственно. Такое количество элемента не случайно и свидетельствует о роли кальция в формировании гастроэнтеральной среды. Необходимо подчеркнуть, что в нативном

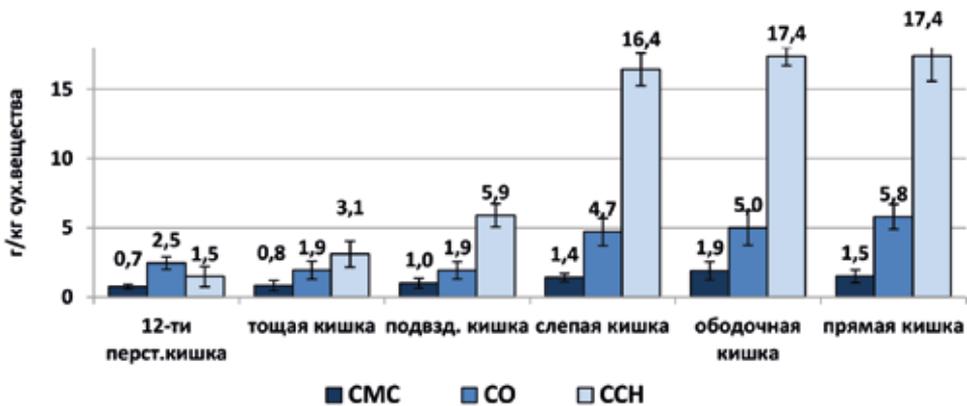


**Рис. 1.** Концентрация кальция по фракциям химуса у мини-пиггов (г/кг сухого вещества).  
**Fig. 1.** Calcium concentration in chyme fractions of minipigs (g/kg of dry matter).

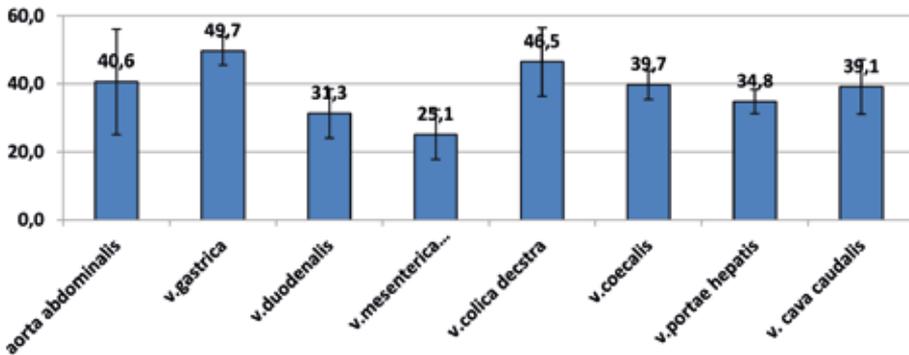
химусе ПЭФ и РФ представлены единым целым в виде геля энтероплазмы, поэтому распределение кальция между растворимым и связанным фактически образует динамичную систему, которая зависит внешних и внутренних факторов.

Дополнительной характеристикой энтерального гомеостазирования кальция стала его концентрация в стенке кишечника (рис. 2). Минимальная концентрация кальция отмечается в СМС и составляет на про-

тяжении кишечника 0,7–1,9 г/кг сухого вещества, увеличиваясь в сторону толстого отдела кишечника, что является функциональной характеристикой гладкомышечной и соединительной ткани. В слизистой оболочке тонкого и толстого кишечника концентрация кальция в 2,4–4 раза выше, чем в СМО, что, вероятно, связано с активацией абсорбции элемента. В пристеночном слое слизистых наложений тонкой кишки мини-пиггов концентрация кальция в целом



**Рис. 2.** Концентрация кальция в стенке кишечника у мини-пиггов (г/кг сухого вещества).  
**Fig. 2.** Calcium concentration in the intestinal wall of minipigs (g/kg of dry matter).



**Рис. 3.** Содержание кальция в крови у мини-пигов (мг% в сухом веществе).  
**Fig. 3.** The content of calcium in the blood of minipigs (mg% in dry matter).

2–2,5 раза ниже, чем в СО. Максимальная концентрация кальция зафиксирована в ССН, при этом начиная с тонкой кишки она резко возрастает с 3,1 до 17,4 г/кг сухого вещества, что в 3 раза выше, чем в СО.

Являясь двусторонним процессом, транспорт кальция через стенку пищеварительного тракта обеспечивает не только кальциевый гомеостаз во всём организме, но и служит источником элемента для клеток тканей стенки ЖКТ. Однако интенсивность его всасывания и экскреции не одинакова в тех или иных участках пищеварительного канала. Анализ артериовенозной разницы (АВР) по кальцию на уровне ЖКТ у мини-пигов показывает, что лишь в желудке и слепой кишке она является положительной, составляя +22 и +14% соответственно (рис. 3). По-видимому, кислотность желудочного сока и микробиологическое брожение с образованием кислот увеличивает концентрацию растворимого ионизированного кальция, что активизирует абсорбцию элемента.

В тонком кишечнике установлена отрицательная АВР по кальцию, а концентрация элемента в оттекающей крови ниже, чем в притекающей — на 23% в двенадцатиперстной и на 40% в тощей кишке. Таким образом, значительная часть кальция за-

держивается на уровне тонкого кишечника, не поступая в кровь. В итоге снижается концентрация элемента в воротной вене печени, где АВР также отрицательная (–5 мг% в сухого вещества). Несмотря на это, уровень кальция в каудальной вене и аорте практически не отличается, составляя 40,6 и 39,1 мг% в сухом веществе, соответственно, по-видимому, из-за положительной АВР в толстом отделе кишечника.

### Заключение

Анализируя материал, полученный в эксперименте на мини-пигах, нужно сказать, что активная кумуляция кальция полостной слизью является физиологической нормой. Кальций, как активный комплексообразователь, взаимодействуя с гидроксильными группами гликопротеинов, неизбежно влияет на пространственную структурированность и химический состав энтероплазмы химуса. Высокая плотность адсорбированных катионов кальция является необходимой не только для ускорения абсорбции, но и для устойчивой организации пространственно-ориентированной структуры молекул гликопротеинов и её с поддержанием при агрессивном воздействии нутриентов и гидролитических ферментов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

---

1. Ахполова В.О. Обмен кальция и его гормональная регуляция. *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. 2017;2:38–46. [Akhpolova V.O. Obmen kal'tsiya i ego gormonal'naya regulyatsiya [Calcium metabolism and its hormonal regulation]. *Zhurnal fundamental'noy meditsiny i biologii* [Journal of Fundamental Medicine and Biology]. 2017;2:38–46. (In Russian)].
2. Ксенофонтов Д.А. Общебиологические закономерности в структурно-функциональной организации полости пищеварения. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2022;7-2(121):115–118. [Ksenofontov D.A. Obshchebiologicheskie zakonomernosti v strukturno-funktsional'noy organizatsii polostnogo pishchevareniya [Common biological patterns in the structural and functional organization of abdominal digestion]. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal* [International Research Journal]. 2022;7-2(121):115–118. (In Russian)]. DOI: 10.23670/IRJ.2022.121.7.060.
3. Питран Б.В., Атлавин А.Б., Апсите М.Р. и др. Сорбционные процессы на начальных этапах всасывания в тонкой кишке. В кн.: *Мембранное пищеварение и всасывание*. Рига, 1986:107–109. [Pitrان B.V., Atlavin A.B., Apsite M.R., et al. Sorbtionnyye protsessy na nachal'nykh etapakh vsasyvaniya v tonkoy kishke [Sorption processes at the initial stages of absorption in the small intestine]. V kn.: *Membrannoe pishchevarenie i vsasyvanie* [In: Membrane digestion and absorption]. Riga, 1986:107–109. (In Russian)].
4. Полякова Е.П., Ксенофонтов Д.А., Иванов А.А. Метод изучения полости пищеварения. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2016;12(136):110–114. [Polyakova E.P., Ksenofontov D.A., Ivanov A.A. Metod izucheniya polostnogo pishchevareniya [The method of studying oral digestion]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya* [Experimental and clinical gastroenterology]. 2016;12(136):110–114. (In Russian)].
5. Bronner F. Recent developments in intestinal calcium absorption. *Nutr. Rev.* 2009;67(2):109–113. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2008.00147.x.
6. Diaz de Barboza G., Guizzardi S., Tolosa de Talamoni N. Molecular aspects of intestinal calcium absorption. *World J. Gastroenterol.* 2015;21(23):7142–7154. DOI: 10.3748/wjg.v21.i23.7142.
7. Kellett G.L. Alternative perspective on intestinal calcium absorption: Proposed complementary actions of Ca(v)1.3 and TRPV6. *Nutr. Rev.* 2011;69(7):347–370. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2011.00395.x.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Ксенофонтов Дмитрий Анатольевич\***, д.б.н., доц., ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К.А. Тимирязева»;  
**e-mail: [smu@rgau-msha.ru](mailto:smu@rgau-msha.ru)**

**Ксенофонтова Анжелика Александровна**, к.б.н., доц., ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К.А. Тимирязева»;  
**e-mail: [angel-ksen@mail.ru](mailto:angel-ksen@mail.ru)**

**Dmitriy A. Ksenofontov\***, Dr. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy;  
**e-mail: [smu@rgau-msha.ru](mailto:smu@rgau-msha.ru)**

**Anzhelika A. Ksenofontova**, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy;  
**e-mail: [angel-ksen@mail.ru](mailto:angel-ksen@mail.ru)**

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## МОДИФИКАЦИЯ И УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СОСТАВА ЛИПОСОМ ЭКСТРАКТА ПРЕПУЦИАЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ МУСКУСА КАБАРГИ СИБИРСКОЙ

М.С. Нестеров<sup>1,\*</sup>, Р.А. Агельдинов<sup>1</sup>, Д.В. Хвостов<sup>1</sup>, С.Л. Люблинский<sup>1</sup>,  
И.Н. Люблинская<sup>2</sup>, В.Н. Каркищенко<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> ООО «Научно-производственная фирма «МОБИТЕК-М»  
249010, Российская Федерация, Калужская обл., Боровск, п. Институт, 6

Охарактеризована липосомальная форма нового оригинального продукта на основе препуциальной железы мускуса кабарги сибирской с модификацией состава в комплексе включения с  $\beta$ -циклодекстрином. Для препаративного получения липосом мускуса кабарги использован эффективный и масштабируемый метод гомогенизации при высоком давлении. Полученный липосомальный продукт охарактеризован методами просвечивающей электронной микроскопии, динамического светорассеяния, препаративной и аналитической хроматографии, хромато-масс-спектрометрии. Разработана спецификация на липосомальную форму экстракта препуциальной железы кабарги сибирской, включающая все критические показатели качества продукта. Получены гомогенные дисперсии липосом мускуса кабарги с равномерным распределением по размерам — с максимумами распределения при 50 и 240 нм. Установлена высокая физико-химическая стабильность липосомальной дисперсии: дзета-потенциал полученных наночастиц составил  $-5...-35$  мВ. Степень включения в липосомы целевых компонентов мускуса кабарги по данным гель-размерной хроматографии и масс-спектрометрии для липосом мускуса по стероидным компонентам и общему белку составила 58–75%. Изученные показатели качества липосомального продукта позволяют получать высоко эффективный продукт на основе липосомальной формы экстракта мускуса кабарги, модифицированной циклодекстрином, как адаптоген природного происхождения с усиленной и выраженной активностью в лабораторных тестах на работоспособность.

**Ключевые слова:** кабарга, мускус, комплексы включения, критические показатели качества, препуциальная железа, липосомы, хроматография, масс-спектрометрия, адаптогены, пептиды, белки, андростероиды, циклодекстрины

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

**Финансирование:** государственное задание по теме «Создание и исследование лекарственного препарата, содержащего стабилизированные в липидах устойчивые наночастицы комплекса биологически активных веществ, выделенных из мускуса кабарги, предназначенного для повышения работоспособности» (шифр: «Технология-2») ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

**Для цитирования:** Нестеров М.С., Агельдинов Р.А., Хвостов Д.В., Люблинский С.Л., Люблинская И.Н., Каркищенко В.Н. Модификация и усовершенствование состава липосом экстракта препуциальной железы мускуса кабарги сибирской. *Биомедицина*. 2023;19(3):29–35. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-29-35>

Поступила 28.04.2023

Принята после доработки 31.07.2023

Опубликована 10.09.2023

## MODIFICATION AND IMPROVEMENT OF THE LIPOSOME COMPOSITION OF PREPUTIAL GLAND EXTRACT OF SIBERIAN MUSK DEER

Maxim S. Nesterov<sup>1,\*</sup>, Ruslan A. Ageldinov<sup>1</sup>, Daniil V. Khvostov<sup>1</sup>,  
Stanislav L. Lyublinskiy<sup>1</sup>, Irina N. Lyublinskaya<sup>2</sup>, Vladislav N. Karkischenko<sup>1</sup>

<sup>1</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

<sup>2</sup> Scientific and Production Company "MOBITEK-M"  
249010, Russian Federation, Kaluga Region, Borovsk, Institute Village, 6

In this work, we set out to characterize the liposomal form of a new original product based on the preputial gland extract of Siberian musk deer whose composition was modified by an inclusion complex with  $\beta$ -cyclodextrin. Musk deer liposomes were obtained by an efficient and scalable high-pressure homogenization method. The resulting liposomal product was characterized by transmission electron microscopy, dynamic light scattering, preparative and analytical chromatography, and gas chromatography-mass spectrometry. A specification for the liposomal form of Siberian musk deer extract was developed, which includes all critical indicators of product quality. Homogeneous dispersions of musk deer liposomes with a uniform size distribution were obtained, with the distribution maxima observed at 50 and 240 nm. The high physicochemical stability of the liposomal dispersion was established with the zeta potential value of the obtained nanoparticles ranging from  $-5$  to  $-35$  mV. According to size-exclusion chromatography and mass spectrometry, the incorporation of deer musk target components into liposomes reached 58–75% for musk liposomes in terms of steroid components and total protein. The revealed quality indicators of the studied liposomal product indicate the possibility of obtaining highly effective products based on the liposomal form of musk deer extract, modified with cyclodextrin, as an adaptogen of natural origin with an enhanced and pronounced activity in laboratory performance tests.

**Keywords:** musk deer, musk, gland, liposomes, chromatography, mass spectrometry, adaptogens, peptides, proteins, androsteroids, cyclodextrin

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

**Funding:** the research topic "Creation and study of a medicinal product containing lipid-stabilized stable nanoparticles of a complex of biologically active substances isolated from musk deer musk, intended to improve performance" (code: "Technology-2") of state assignment of the Scientific Center of Biomedical Technologies of FMBA of Russia.

**For citation:** Nesterov M.S., Ageldinov R.A., Khvostov D.V., Lyublinskiy S.L., Lyublinskaya I.N., Karkischenko V.N. Modification and Improvement of the Liposome Composition of Preputial Gland Extract of Siberian Musk Deer. *Journal Biomed.* 2023;19(3):29–35. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-29-35>

Submitted 28.04.2023

Revised 31.07.2023

Published 10.09.2023

### Введение

В последнее время во всём мире проводятся исследования по изучению влияния различных вспомогательных веществ на эффективность и качество лекарственных препаратов. Известно, что вспомогательные вещества позволяют регулировать основные константы фармакокинетики (из-

менение концентрации вещества во времени) и фармакодинамики (совокупность эффектов, вызываемых лекарством) и, таким образом, повышать эффективность лекарственной терапии.

Одними из таких веществ являются циклодекстрины. Помимо производства пищевых продуктов и косметических средств,

они нашли широкое применение в фармацевтической промышленности в качестве систем доставки лекарств. Циклодекстрины могут служить защитными агентами, которые предотвращают преждевременный метаболизм лекарств и, таким образом, делают возможным, например, пероральное, а не внутривенное введение. Они могут изменять растворимость лекарств, в т. ч. слаборастворимых, и особенности их биологического транспорта, увеличивая специфичность к мишени. Комплексы циклодекстринов с биологически активными молекулами повышают их стабильность в среде физиологических жидкостей и при хранении, улучшают вкусовые качества, маскируя неприятные или горькие привкусы, усиливают их фармакологическую активность и пролонгируют терапевтического действие, снижают побочные эффекты и т. д.

Основной интерес исследователей к изучению циклодекстринов связан именно с их способностью образовывать комплексы включения с различными группами различных органических и неорганических соединений. Это свойство определяется тем, что циклодекстрины представляют собой уникальные природные наноструктуры, снабжённые гидрофобной внутренней полостью и гидрофильной внешней поверхностью, т. н. «молекулярные контейнеры», которые способны удерживать во внутренней полости неполярные, неионизированные молекулы вещества-«гостя». Это приводит к образованию комплекса включения, что придаёт гидрофобным молекулам вещества-«гостя» уникальное свойство растворяться в водной фазе за счёт гидрофильной наружной поверхности «молекулярного контейнера». Очевидно, что способность молекул вещества-«гостя» встроиться в полость олигосахаридов (т. н. «хозяина») и стабильность образующегося комплекса включения зависят не только от полярности и размера этих молекул, но также и от фи-

зико-химических свойств молекул циклодекстринов.

**Целью работы** было комплексное исследование физико-химических свойств ряда критических показателей качества липосомированной формы мускуса кабарги сибирской после модификации их  $\beta$ -циклодекстрином.

Данный олигосахарид имеет 7 остатков глюкозы, молекулярную массу — 1134 Да, с внешним диаметром 15,4 А и диаметром полости тора 7,8 А. При нормальных условиях одна молекула  $\beta$ -циклодекстрина может ассоциировать 9,6 молекулы воды. Способность циклодекстринов образовывать прочные комплексы с гидрофобными «гостями» в водных растворах обусловлена строением их внутримолекулярной полости. Данная полость, образованная углеводородным окружением и гликозидными атомами кислорода, является малополярной и гидрофобной по сравнению с внешней поверхностью. При этом возникающее и исчезающее в молекуле «хозяина» напряжение предопределяет одну из движущих сил клатратообразования.

Диаметр внутренней полости  $\beta$ -циклодекстрина хорошо соответствует размерам молекул большого множества субстратов, в т. ч. биологически активных веществ (БАВ) из мускуса кабарги.

Учитывая вышеизложенное, было сделано предположение о возможности образования молекулярных комплексов включения (клатратов) между  $\beta$ -циклодекстрином, липосомами, а также отдельными БАВ мускуса кабарги.

Экстракт мускуса кабарги — продукт препуциальной железы кабарги сибирской (*Moschus moschiferus*) — давно известен как вещество, обладающее широким спектром биологической активности, обусловленной многокомпонентным составом: андростероиды и их метаболиты, гетероциклические соединения (пиримидины и фу-

раны), воски, жиры, сложные эфиры холестерина, белки и пептиды и т. д. [2]. Такой сложный и многокомпонентный состав предъявляет особые требования к форме лекарственного средства, обеспечивающей биологическую доступность, снижение системной токсичности, защиту от деградации, контроль высвобождения и целевую доставку фармацевтической субстанции. Одним из подходящих форм лекарственного средства на основе мускуса кабарги являются липосомы [1].

Ввиду большого разнообразия липосом как по строению, так и по составу липидной мембраны, ряд критериев используется для стандартизации липосомированных форм препаратов. Анализ химической стабильности липосом включает в себя оценку степени окисления и гидролиза фосфолипидных компонентов, самоокисления холестерина и деградацию антиоксидантного компонента. Анализ физических характеристик липосом включает в себя показатели распределения по размеру, электрического поверхностного потенциала ( $\zeta$ -потенциал), температуру фазового перехода, эффективность включения фармакологических субстанций, а также их высвобождения в целевой биосреде [5, 6].

Наиболее часто встречающийся диаметр коммерческих одноламеллярных липосом лежит в диапазоне 70–200 нм, притом что в исследовательских работах встречаются везикулы диаметром от нескольких нанометров до нескольких микрометров. Везикулы с диаметром более 200 нм имеют тенденцию к преобразованию в мультиламеллярный тип, при котором стенка состоит из десятков или сотен бислоев фосфолипидов, что существенно замедляет высвобождение активных компонентов [4]. Принято считать, что чем выше  $\zeta$ -потенциал (вне зависимости от знака), тем более стабильны коллоидные растворы липосом. Однако рост потенциала выше 40 мВ приводит к взаимодействию с рас-

творителем и формированию крупных агрегатов. Исходя из назначения везикул, также существует оптимум  $\zeta$ -потенциала. Так, в экспериментах на мышах было показано, что  $\zeta = -7,6$  мВ обеспечивает более длительное циркулирование липосом в организме и их высокое накопление в опухоли [3].

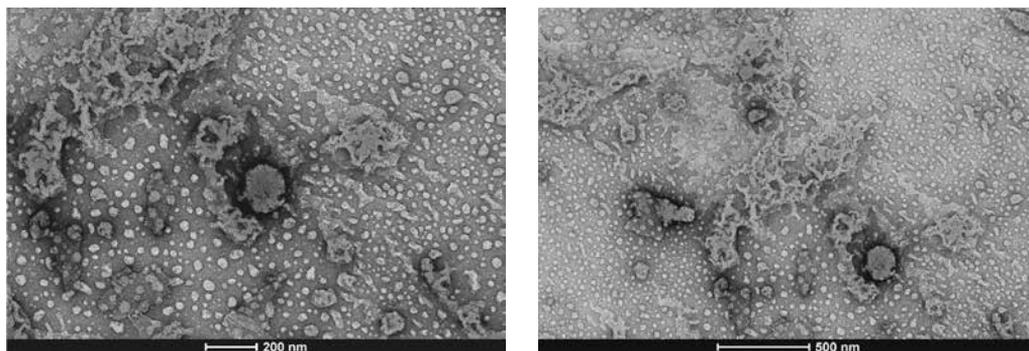
### Материалы и методы

Липосомированную форму мускуса кабарги сибирской получали методом гомогенизации высоким давлением, описанным ранее [2].

Визуализацию липосом мускуса кабарги проводили в просвечивающем электронном микроскопе Tecnaï G2 Spirit bioTWIN («FEI», США) при ускоряющем напряжении 120 кВ и 5000–80000-кратных увеличениях методом негативного контрастирования. Оценку среднего диаметра и распределения по размеру липосом проводили методом динамического рассеяния света на анализаторе Photocor Compact-Z (ООО «Фотокор», Россия). Оценку  $\zeta$ -потенциала проводили методом электрофоретического рассеяния света на анализаторе Photocor Compact-Z (ООО «Фотокор», Россия). Индекс окисленности определяли спектрофотометрически (Multiscan Go, «Thermo Fisher Scientific», США) как соотношение интенсивности пика поглощения в УФ-спектре анализируемых липосом, A233/A215, что достаточно полно отражает процессы окисления, проходящие в липидах как в ходе получения и хранения липидов, так и при формировании липосом.

Для получения комплексов включения и модификации состава липосом применялся  $\beta$ -циклодекстрин — нативный циклический олигосахарид, полученный в результате биотехнологической конверсии крахмала.

Хромато-масс-спектрометрический анализ для подтверждения стероидной подлинности получаемого продукта выполняли на ГХ-МС анализаторе «Хроматэк», состо-



**Рис.** Микрофотографии липосом мускуса кабарги, модифицированных циклодекстрином (ускоряющее напряжение 120 кВ; увеличение от 5000 до 80 000 крат; негативное контрастирование)

**Fig.** Micrographs of musk deer liposomes modified with cyclodextrin (accelerating voltage 120 kV; magnification from 5000 to 80,000 times; negative contrast)

ящем из газового хроматографа «Хроматэк-Кристалл 5000» и жидкостного дозатора ДАЖ-2М (ЗД). Оценку степени включения биологически активных компонентов мускуса кабарги в состав липосом проводили методом хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения на хроматографической системе 1290 Q-TOFF 6545 XT («Agilent Technologies», США). В анализ на оценку степени включения отбирали фракции липосом после гель-размерной хроматографии, очищенные от невключённых компонентов липидной мембраны и исходного сырья. Целевыми маркерами продукта служили стероидная фракция, общий белок и холестерин.

### Результаты исследований

Микрофотографии липосом мускуса кабарги убедительно подтверждают подлинность полученной в условиях технологического процесса липосомальной субстанции для трёх испытуемых серий продукта. На рисунке видны монослоистые везикулы (липосомы) округлой формы, размером от 50 до 350 нм с преобладающей фракцией частиц размером около 200 нм.

Прослеживаются отдельные монослоистые липосомы сферической формы,

что также подтверждает подлинность субстанции. На переднем плане чётко видны несколько крупных липосом размером от 300 до 500 нм, хорошо нагруженных (окрашенных) гидрофильными (внутренний объём везикул) и гидрофобными (пространство внутри внешнего бислоя везикул, образованного фосфолипидами) компонентами, входящими в состав мускуса кабарги. Необходимо подчеркнуть, что на всех микрофотографиях основная фракция липосом представлена частицами с диаметром около 200 нм.

Значение индекса окисленности испытуемых растворов липосом мускуса кабарги не превышает показателя 0,5.

### Вывод

В результате мультиметодического анализа трёх технологических серий липосомальной формы экстракта мускуса кабарги разработан проект спецификации продукта на основе экстрактивного материала мускуса кабарги сибирской, модифицированного циклодекстринами, для применения в биологических тестах на лабораторных животных для анализа физической выносливости и работоспособности (табл.).

**Таблица.** Критические показатели качества липосом, модифицированных циклодекстрином, содержащих комплекс БАВ, выделенных из мускуса кабарги

**Table.** Critical quality indicators of liposomes containing a complex of biological activity substances isolated from musk

Показатель	Метод	Норма
Описание	Органолептический ГФ XIII, ОФС 1.1.0006.15, ч. 1	Лифолизированный аморфный порошок светло-коричневого цвета с характерным запахом и вкусом мускуса
Растворимость	ГФ РФ XIII, ОФС 1.2.1.0005.15, ч. 1, с. 531	Мало растворим в воде, мало растворим в спирте 96%, практически не растворим в гексане
Подлинность: - наличие БАВ мускуса	ВЭЖХ-УФ	Время удерживания основных пиков на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основных пиков на хроматограмме стандартного образца липосом мускуса кабарги
Размер частиц	ГФ XII, ч. 2. Фотодинамическое и лазерное светорассеяние	Не менее 90% с размером от 100 до 1000 нм
Индекс полидисперсности	Фотодинамическое и лазерное светорассеяние	Не более 0,5
Дзета-потенциал	Динамическое светорассеяние	-25...-60 мВ
Степень включения БАВ мускуса	Гель-хроматография ВЖХ-МС	Не менее 50% Не менее 50%
Индекс окисленности	Спектрофотометрия	Не более 0,5
pH	ГФ РФ, ОФС 1.1.0006.15 (потенциометрический метод)	От 6,0 до 8,0 (1%-ный раствор)
Вода	ГФ РФ, ОФС 1.2.3.0002.15	Не более 5,0%
Общий белок (растворимая фракция)	ГФ РФ, ОФС 1.2.3.0012.15 Метод Бредфорд (колориметрический)	Не более 10,0%
В-Циклодекстрин	Спектрофотометрия	Не менее 10%
Гуммиарабик		Не менее 5%
Фосфолипиды (в пересчёте на фосфор)	Спектрофотометрия	Не менее 30%
Сульфатная зола	ГФ РФ, ОФС 1.2.2.2.0014.15	Не более 10,0%
Тяжёлые металлы	ГФ РФ, ОФС 1.2.2.2.0012.15	Не более 0,002%
Микробиологическая чистота	ГФ РФ, ОФС 1.2.4.0002.15	Категория 3.2
Количественное определение	ВЭЖХ	Не менее 90,0% и не более 110,0% в пересчёте на безводное вещество относительно стандартного образца липосом мускуса кабарги
Хранение	В сухом защищённом от света месте при температуре не выше 20 °С	
Срок годности	Устанавливается	

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Каркищенко В.Н., Дуля М.С., Агельдинов Р.А., Люблинский С.Л., Каркищенко Н.Н. Липосомированная форма экстракта препуциальной железы кабарги — новое средство адаптогенного действия. *Биомедицина*. 2019;15(4):34–45. [Karkischenko V.N., Dulya M.S., Ageldinov R.A., Lyublinskiy S.L., Karkischenko N.N. Liposomirovannaya forma ekstrakta preputzial'noy zhelezy kabargi — novoe sredstvo adaptogenogo deystviya [A liposomal composition of musk deer preputial gland extract as a new agent of adaptogen-
- ic]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2019;15(4):34–45. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-15-4-34-45.
- Нестеров М.С., Агельдинов Р.А., Хвостов Д.В., Кохан В.С., Левашова А.И., Люблинский С.Л., Каркищенко В.Н. Стандартизация критических показателей качества липосом экстракта препуциальной железы мускуса кабарги сибирской. *Биомедицина*. 2021;17(3):62–67. [Nesterov M.S., Ageldinov R.A., Khvostov D.V., Kokhan V.S., Levashova A.I., Lyublinskiy S.L., Karkischenko V.N.

- Standardizatsiya kriticheskikh pokazateley kachestva liposom ekstrakta preputsiyal'noy zhelezy muskusa kabargi sibirskoy [Standardization of critical quality indicators of liposomes of Siberian musk deer prepuccial gland extract]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2021;17(3):62–67. (In Russian). DOI: 10.33647/2074-5982-17-3-62-67.
- Bulbake U., Doppalapudi S., Kommineni N., Khan W. Liposomal formulations in clinical use: An updated review. *Pharmaceutics*. 2017;9(2):12. DOI: 10.3390/pharmaceutics9020012.
  - Lee J.S., Ankone M., Pieters E., Schiffelers R.M., Hennink W.E., Feijen J. Circulation kinetics and biodistribution of dual-labeled polymersomes with modulated surface charge in tumor-bearing mice: comparison with stealth liposomes. *J Control Release*. 2011;155(2):282–288. DOI: 10.1016/j.jconrel.2011.07.028.
  - Maherani B., Arab-tehrany E., Kheiriloom A., Reshetov V., Stebe M.J., Linder M. Optimization and characterization of liposome formulation by mixture design. *Analyst*. 2012;137(3):773–786. DOI: 10.1039/c1an15794a.
  - Zylberberg C., Matosevic S. Pharmaceutical liposomal drug delivery: A review of new delivery systems and a look at the regulatory landscape. *Drug Deliv*. 2016;23(9):3319–3329. DOI: 10.1080/10717544.2016.1177136.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Нестеров Максим Сергеевич\***, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

**e-mail: [mdulya@gmail.com](mailto:mdulya@gmail.com)**

**Агельдинов Руслан Андреевич**, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

**e-mail: [ageldinov@gmail.com](mailto:ageldinov@gmail.com)**

**Хвостов Даниил Владиславович**, к.т.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

**e-mail: [daniil\\_hvostov@mail.ru](mailto:daniil_hvostov@mail.ru)**

**Люблинский Станислав Львович**, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

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

**Люблинская Ирина Николаевна**, ООО «Научно-производственная фирма “МОБИТЕК-М”»;

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

**Каркищенко Владислав Николаевич**, д.м.н., проф., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

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

**Maxim S. Nesterov\***, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

**e-mail: [mdulya@gmail.com](mailto:mdulya@gmail.com)**

**Ruslan A. Ageldinov**, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

**e-mail: [ageldinov@gmail.com](mailto:ageldinov@gmail.com)**

**Daniil V. Khvostov**, Cand. Sci. (Tech.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

**e-mail: [daniil\\_hvostov@mail.ru](mailto:daniil_hvostov@mail.ru)**

**Stanislav L. Lyublinskiy**, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical Biological Agency of Russia;

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

**Irina N. Lyublinskaya**, Scientific and Production Company “MOBITEK-M”;

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

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



## ИНГАЛЯЦИОННОЕ ВВЕДЕНИЕ ПРЕПАРАТА ЛЕЙТРАГИН МЫШАМ ЛИНИИ C57BL/6Y В МОДЕЛИ ОРДС ПОВЫШАЕТ УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *SIRT1*

Н.С. Огнева\*, Л.А. Табоjackова, О.В. Алимкина, Н.В. Петрова

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

В настоящей работе описывается методика ингаляционного введения лекарственного средства «Лейтрагин» в лёгкие мышам линии C57BL/6Y в модели острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС). Ингаляции проводились с помощью компрессионного ингалятора OMRON COMP AIR NE-C24 Kids с насадкой для одномоментного введения нескольким мышам, разработанной в НЦБМТ ФМБА России. Моделирование ОРДС осуществлялось последовательным введением  $\alpha$ -галактозилцерамида, ингаляционно в дозе 1 мкг/мышь, и через 24 ч — комбинации липополисахарида *E. coli* (LPS) в дозе 300 мкг/мышь. Через 30 мин после введения LPS проводилось ингаляционное введение мышам лекарственного средства «Лейтрагин» в опытной группе и физ. раствора в контрольной группе. После ингаляции проводился отбор биоматериала (тканей лёгкого) для оценки экспрессии гена *SIRT1* методом RT-PCR в качестве маркера успешного проникновения препарата в ткани лёгкого.

**Ключевые слова:** Лейтрагин, острый респираторный дистресс-синдром, ингаляционное введение, *SIRT1*, мыши C57BL/6Y

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

**Для цитирования:** Огнева Н.С., Табоjackова Л.А., Алимкина О.В., Петрова Н.В. Ингаляционное введение препарата Лейтрагин мышам линии C57BL/6Y в модели ОРДС повышает уровень экспрессии гена *SIRT1*. *Биомедицина*. 2023;19(3):36–41. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-36-41>

Поступила 10.04.2023

Принята после доработки 27.07.2023

Опубликована 10.09.2023

## INHALATION ADMINISTRATION OF LEYTRAGIN TO C57BL/6Y MICE IN AN ARDS MODEL INCREASES THE EXPRESSION LEVEL OF *SIRT1* GENE

Nastasya S. Ogneva\*, Lidiya A. Taboyakova, Oksana V. Alimkina, Nataliya V. Petrova

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

This paper describes a technique for inhalation administration of Leutragin into the lungs of C57BL/6Y mice in a model of acute respiratory distress syndrome (ARDS). Inhalations were carried out using an OMRON COMP AIR NE-C24 Kids compression inhaler with a nozzle for simultaneous administration to several mice, developed at the Scientific Center of Biomedical Technologies of FMBA of Russia. Modeling of ARDS was carried out by sequential administration of  $\alpha$ -galactosylceramide, inhaled at a dose of 1  $\mu$ g/mouse, and, following 24 hours, a combination of *E. coli* lipopolysaccharide (LPS) at a dose of 300  $\mu$ g/mouse. Thirty minutes after the administration of LPS, inhalation administration of the Ley-

tragin drug was carried out to mice in the experimental group and normal saline in the control group. After inhalation, a biomaterial (lung tissue) was collected to evaluate the expression of the *SIRT1* gene by RT-PCR as a marker of successful penetration of the drug into the lung tissue.

**Keywords:** Leytragin, acute respiratory distress syndrome, inhalation administration, *SIRT1*, C57BL/6Y mice

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

**For citation:** Ogneva N.S., Taboyakova L.A., Alimkina O.V., Petrova N.V. Inhalation Administration of Leytragin to C57BL/6Y Mice in an ARDS Model Increases the Expression Level of *SIRT1* Gene. *Journal Biomed.* 2023;19(3):36–41. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-36-41>

Submitted 10.04.2023

Revised 27.07.2023

Published 10.09.2023

## Введение

Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) является тяжёлой патологией лёгких, вызванной прогрессирующим самоподдерживающимся воспалением, в котором участвуют различные клетки иммунной системы, экспрессирующие провоспалительные цитокины, такие как IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  [6]. В предыдущих работах было показано, что разработанный в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России пептидный лекарственный препарат «Лейтрагин», являющийся пептидным агонистом  $\delta$ -опиоидных рецепторов, искусственным аналогом эндогенного опиоидного пептида динорфина 1–6, достоверно значимо снижает экспрессию вышеописанных цитокинов у мышей в модели ОРДС и, соответственно, способствует более быстрому разрешению воспалительного процесса в опытных группах [2]. Также была показана положительная связь уровня экспрессии HMGB1 и степени тяжести заболевания у человека и животных [4]. HMGB1 является белком из группы ядерных негистоновых белков HMG, секретируется активированными макрофагами и моноцитами в качестве цитокинового медиатора. Его высвобождение из ядра, а далее — во внеклеточную жидкость обусловлено повреждением ткани или некрозом. После высвобождения из клеток HMGB1 связывается с TLR4 и активирует каскад воспалительных реакций посредством выброса цитоки-

нов и хемокинов макрофагами, тем самым запуская «цитокиновый шторм» [4]. В нескольких работах было показано, что белок сиртуин-1, кодируемый геном *SIRT1*, регулирует индуцированные инфекцией провоспалительные цитокины и хемокины посредством ингибирования ядерной транслокации в цитоплазму и высвобождения групп из остатков лизина в присутствии НАД<sup>+</sup> [5, 8–10]. Данный механизм ингибирования воспаления является перспективным для более глубокого и детального изучения путей развития инфекционных и неинфекционных воспалительных заболеваний, а также разработки отечественных лекарственных средств. Полученные ранее данные свидетельствуют о том, что препарат «Лейтрагин» достоверно снижает уровень выброса HMGB1 из ядра во внеклеточную жидкость в модели ОРДС на мышах линии C57BL/6Y, что может говорить о его непосредственном влиянии на экспрессию *SIRT1* [4]. Данная работа направлена на оценку экспрессии гена *SIRT1* у экспериментальных животных после ингаляционного введения «Лейтрагина». Путём измерения уровня экспрессии гена *SIRT1* в лёгких животных возможна валидация метода ингаляционных введений мышам, которые имеют физиологическое расхождение с человеком, а именно облигатное носовое дыхание, в то время как человек может дышать и ртом, и носом, а также не-

возможность объективно проверить факт вдыхания препарата мышами [1].

**Целью работы** явилась оценка методики ингаляционного введения лекарственного средства «Лейтрагин» в лёгкие мышам линии C57Bl/6Y в биомодели острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) по уровню экспрессии гена *SIRT1*.

## Материалы и методы

### Материалы

Реагенты были получены от Invitrogen или Sigma-Aldrich («Merck», США).

### Животные

Исследования проводились в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России на мышах линии C57Bl/6Y, самках в возрасте около 2,5 мес., средней массой  $20 \pm 2,0$  г. Животные были получены из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская обл.) и отобраны в эксперимент методом рандомизации. Мышей содержали в микроизоляторной системе Rair IsoSystem по пять особей в группе. Животные соответствовали категории улучшенных конвенциональных. Они получали стандартный комбикорм гранулированный полнорационный для лабораторных животных (экструдированный) ПК-120 ГОСТ Р 51849-2001 Р.5. Водопроводная очищенная вода всем животным давалась *ad libitum* в стандартных поилках. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды при температуре воздуха 18–22 °С, относительной влажности 60–70% и искусственном освещении с циклом 12/12. Все эксперименты проводились в соответствии с этическими принципами и нормативными документами, рекомендованными Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов [3].

### Модель острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС)

Животным моделировали острое поражение лёгких и респираторный дистресс-

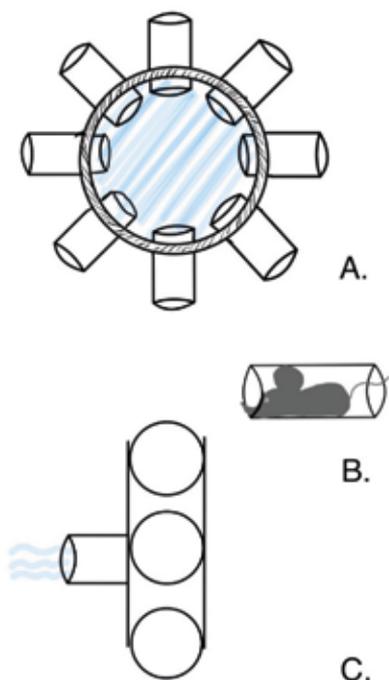
синдром последовательным введением  $\alpha$ -галактозилцерамида, ингаляционно в дозе 1 мкг/мышь, и через 24 ч — комбинации липополисахарида *E. coli* в дозе 300 мкг/мышь с добавлением 100 мкг/мышь мурамилпептида и 10 мкл/мышь полного адьюванта Фрейнда, здесь и далее обозначаемой как «LPS», интратрахеально под инъекционным наркозом, состоящим из комбинации препаратов — Золетил 100 («Virbac», Франция) и Медитамидин («Ari-San», Россия) в дозе 12,5 мг/кг и 1 мг/кг соответственно, а также сразу после проведения хирургической манипуляции вводился Антиседан («Orion Pharma», Финляндия), подкожно в дозе 2,5 мг/кг, что способствовало снятию нежелательных эффектов на организм мыши и быстрому выходу из наркоза.

### Лечение

Лечение осуществлялось препаратом «Лейтрагин», мыши были разделены на две группы по 6 особей в каждой. Через 30 мин после интратрахеального введения LPS опытной группе ингаляционно вводили «Лейтрагин» (в дозе 0,1 мг/кг массы тела, в объёме 100 мкл р-ра), контрольной группе ингаляционно вводили физ. р-р в объёме 100 мкл/мышь.

### Ингаляционная установка

Ингаляции препаратом «Лейтрагин» и физ. р-ром проводились компрессорным ингалятором OMRON COMP AIR NE-C24 Kids с заданными характеристиками (размер частиц — приблизительно 3 мкм, производительность — около 0,3 мл/мин). Для более эффективного процесса в НЦБМТ ФМБА России была разработана насадка на ингалятор (рис. 1). Данная модификация позволяет проводить ингаляцию одновременно нескольким животным с равной дозой нагрузкой благодаря расположению фиксаторов на одинаковом расстоянии от источника подачи аэрозоля. Каждая мышь помещается в отдельный фиксатор таким образом, чтобы в общий резервуар попадала только



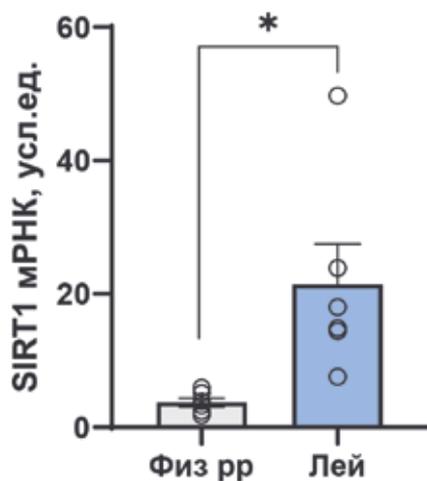
**Рис. 1.** Схематическое изображение ингаляционной камеры: A — вид сверху; B — нос мыши располагается внутри резервуара с подачей лекарственного средства; C — вид сбоку

**Fig. 1.** Schematic representation of the inhalation chamber: A — top view; B — the nose of the mouse is located inside the reservoir with the supply of the drug; C — side view

носовая часть мордочки. Одна сессия ингаляции по времени проводилась из расчёта объёма лекарственного препарата, залитого в резервуар, и производительности прибора (0,3 мл/мин).

#### Оценка экспрессии гена *SIRT1* методом RT-PCR

Через 30 мин после ингаляционного введения «Лейтрагина» производился отбор биологического материала (тканей лёгкого) для дальнейшего изучения экспрессии гена *SIRT1* методом RT-PCR у контрольной и опытной групп. Измерение осуществлялось с помощью детектирующего амплификатора CFX-96 («Bio-Rad», США) при использовании специфических прайме-



**Рис. 2.** Эффект ингаляционного введения «Лейтрагина» на экспрессию мРНК *SIRT1* в лёгких мышей C57BL/6Y с ОРДС по отношению к интактному контролю

**Примечания:** столбцы представляют собой среднее значение ± стандартная ошибка среднего; \* —  $p < 0,05$  по сравнению с физиологическим раствором (непарный двусторонний *t*-тест Стьюдента).

**Fig. 2.** Effect of inhaled Leutragin on *SIRT1* mRNA expression in lungs of C57BL/6Y mice with ARDS relative to intact control

**Notes:** bars represent mean ± standard error of the mean; \* —  $p < 0.05$  compared to normal saline (unpaired two-sided *t*-test of Student).

ров и флуоресцентных зондов. В качестве референсного гена был выбран ген «домашнего хозяйства» *GAPDH*. Результаты изменений выражались как кратность изменения экспрессии гена относительно экспрессии того же гена у контрольных животных.

#### Результаты исследований

Результаты представлены как относительные уровни транскрипции мРНК опытных животных по отношению к контролю (рис. 2). Данные, полученные на RT-PCR, удовлетворяли критерию Колмогорова — Смирнова на нормальность распределения. Уровень экспрессии *SIRT1* у опытной группы, получавшей лечение «Лейтрагином»

ингаляционно, значительно превосходит аналогичный в контрольной группе, получавшей физ. р-р.

## Заключение

Предложенный метод ингаляционного введения мышам обеспечивает надёжную доставку исследуемого препарата в лёгкие, о чём свидетельствуют изменения экспрессии гена-мишени *SIRT1* в лёгочной ткани.

Нами было показано, что, несмотря на физиологические особенности облигатного носового дыхания мыши, ингаляционный метод введения препарата «Лейтрагин» является валидным, исследуемое лекарственное средство попадает в ткани лёгкого и может быть применено как адекватная модель лечения воспалительных заболеваний лёгких, а именно — острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Каргопольцева Д.Р., Кательникова А.Е., Крышень К.Л., Гушин Я.А. Особенности дыхательной системы животных, используемых в доклинических исследованиях, которые необходимо учитывать при моделировании патологий лёгких. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2020;4:71–85. [Kargopol'tseva D.R., Katelnikova A.E., Kryshen K.L., Guschin Ya.A. Osobennosti dykhatel'noy sistemy zhiivotnykh, ispol'zuemykh v doklinicheskikh issledovaniyakh, kotorye neobkhodimo uchityvat' pri modelirovaniy patologiy legkikh [Features of the respiratory system of animals used in pre-clinical studies which should be taken account of the modeling lung pathologies]. *Laboratornye zhiivotnye dlya nauchnykh issledovaniy [Laboratory Animals for Science]*. 2020;4:71–85. (In Russian)]. DOI: 10.29296/2618723X-2020-04-08.
2. Каркищенко В.Н., Помыткин И.А., Петрова Н.В., Нестеров М.С., Агелдинов Р.А., Зотова Л.В., Колоскова Е.М., Слободенюк В.В., Скворцова В.И. Лейтрагин подавляет экспрессию цитокинов, включая интерлейкин-6, в модели «цитокинового шторма» у мышей линии C57BL/6Y с индуцированным острым респираторным дистресс-синдромом. *Биомедицина*. 2020;16(4):34–43. [Karkischenko V.N., Pomytkin I.A., Petrova N.V., Nesterov M.S., Ageldinov R.A., Zotova L.V., Koloskova E.M., Slobodenyuk V.V., Skvortsova V.I. Leytragin podavlyayet ekspressiyu tsitokinov, vlyuchaya interleykin-6, v modeli «tsitokinovogo shtorma» u myshey linii C57BL/6Y s indutsirovannym ostrym respiratornym distress-sindromom [Leutragin inhibits expression of cytokines, including interleukin-6, in a “cytokine storm” model in C57BL/6Y mice with induced acute respiratory distress syndrome]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2020;16(4):34–43. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-16-4-34-43.
3. *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 zhiivotnym i alternativnym modelyam v biomeditsinskih issledovaniyakh [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)].
4. Karkischenko V.N., Skvortsova V.I., Gasanov M.T., Fokin Y.V., Nesterov M.S., Petrova N.V., Alimkina O.V., Pomytkin I.A. Inhaled [D-Ala2]-dynorphin 1-6 prevents hyperacetylation and release of high mobility group box 1 in a mouse model of acute lung injury. *J. Immunol. Res.* 2021;2021:4414544. DOI: 10.1155/2021/4414544.
5. Rahman I., Kinnula V.L., Gorbunova V., Yao H. SIRT1 as a therapeutic target in inflammaging of the pulmonary disease. *Prev. Med.* 2012;54(Suppl):S20–28. DOI: 10.1016/j.ypmed.2011.11.014.
6. Sinha P., Bos L.D. Pathophysiology of the acute respiratory distress syndrome: Insights from clinical studies. *Crit. Care Clin.* 2021;37(4):795–815. DOI: 10.1016/j.ccc.2021.05.005.
7. Vijayakumar E.C., Bhatt L.K., Prabhavalkar K.S. High mobility group box-1 (HMGB1): A potential target in therapeutics. *Curr. Drug Targets.* 2019;20(14):1474–1485. DOI: 10.2174/1389450120666190618125100.
8. Wang Z., Guo W., Yi F., Zhou T., Li X., Feng Y., Guo Q., Xu H., Song X., Cao L. The regulatory effect of SIRT1 on extracellular microenvironment remodeling. *Int. J. Biol. Sci.* 2021;17(1):89–96. DOI: 10.7150/ijbs.52619.
9. Wei L., Zhang W., Li Y., Zhai J. The *SIRT1-HMGB1* axis: Therapeutic potential to ameliorate inflammatory responses and tumor occurrence. *Front Cell Dev. Biol.* 2022;10: 986511. DOI: 10.3389/fcell.2022.986511.
10. Zhang Y.F., Wei W., Li L., Tu G., Zhang Y., Yang J., Xing Y. SIRT1 and HMGB1 regulate the AGE-induced pro-inflammatory cytokines in human retinal cells. *Clin. Lab.* 2015; 61(8):999–1008. DOI: 10.7754/clin.lab.2015.150141.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Огнева Настасья Сергеевна\***, ФГБУН  
«Научный центр биомедицинских технологий  
ФМБА России»;

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

**Nastasya S. Ogneva\***, Scientific Center of Bio-  
medical Technologies of the Federal Medical and  
Biological Agency of Russia;

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

**Табомякова Лидия Александровна**, ФГБУН  
«Научный центр биомедицинских технологий  
ФМБА России»;

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

**Lidiya A. Taboyakova**, Scientific Center of Bio-  
medical Technologies of the Federal Medical and  
Biological Agency of Russia;

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

**Алимкина Оксана Владимировна**, ФГБУН  
«Научный центр биомедицинских технологий  
ФМБА России»;

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

**Oksana V. Alimkina**, Scientific Center of Biomed-  
ical Technologies of the Federal Medical and Bio-  
logical Agency of Russia;

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

**Петрова Наталья Владимировна**, ФГБУН  
«Научный центр биомедицинских технологий  
ФМБА России»;

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

**Nataliya V. Petrova**, Scientific Center of Biomed-  
ical Technologies of the Federal Medical and Bio-  
logical Agency of Russia;

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

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



## НОРМОТИМИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ АСКОРБАТА ЛИТИЯ НА БИОМЕДИЦИНСКИХ МОДЕЛЯХ СВИНЕЙ

К.С. Остренко

*Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста»  
249013, Российская Федерация, Калужская обл., Боровск, п. Институт*

Свиньи во многих развитых странах уже давно привлекают внимание в качестве биологической модели. Свиньи — эмоционально неустойчивые животные, с низкой резистентностью к стрессовым воздействиям. В связи с этим в качестве биомедицинской модели исследования на свиньях позволяют проверить длительное применение препаратов и их последствие. Цель работы — апробация неинвазивного антистрессового препарата аскорбата лития для снижения негативного воздействия спонтанных стресс-факторов, возникающих у свиней. Перед постановкой в опыт и в шестимесячном возрасте у животных отбирали пробы крови. В плазме крови были определены адреналин, норадреналин, кортизол и прогестерон, малоновый диальдегид, тиол-дисульфидное соотношение, активность супероксиддисмутазы. На основании проведённых исследований можно сделать заключение о том, что в результате воздействия стрессоров, возникающих в процессе стандартного производственного цикла выращивания поросят, происходит активизация системы биологических активных центров, вследствие чего повышается уровень общей реактивности организма. Экспериментальные данные по комплексу эндокринологических и биохимических параметров свидетельствуют о том, что аскорбат лития у свиней на откорме положительно влияет на антиоксидантный статус.

**Ключевые слова:** свиньи, антистрессовые препараты, аскорбат лития, катехоламины, кортизол, антиоксидантный статус

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

**Для цитирования:** Остренко К.С. Нормотимический эффект аскорбата лития на биомедицинских моделях свиней. *Биомедицина*. 2023;19(3):42–46. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-42-46>

Поступила 03.04.2023

Принята после доработки 16.07.2023

Опубликована 10.09.2023

## NORMOTHYMIC EFFECT OF LITHIUM ASCORBATE ON BIOMEDICAL MODELS OF PIGS

Konstantin S. Ostrenko

*All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition — Branch of the Federal Scientific Center of Animal Husbandry — The All-Russian Institute of Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst  
249013, Russian Federation, Kaluga Region, Borovsk, Institut Village*

In many developed countries, pigs have long attracted attention as biological models. Pigs are emotionally unstable animals, with a low resistance to stress. In this regard, experiments with pigs as biomedical models can be used to test the long-term use of drugs and their aftereffects. In this work, we set out to test a non-invasive anti-stress drug – lithium ascorbate – for reducing the negative impact of spontaneous stress

factors occurring in pigs. Prior to experiments and at six months of age, blood samples were taken from animals. Adrenaline, norepinephrine, cortisol and progesterone, malondialdehyde, thiol-disulfide ratio, and superoxide dismutase activity were determined in the blood plasma. The conducted research allows us to conclude that the stressors arising during the standard production cycle of raising piglets activate the system of biological active centers of pigs, thereby increasing the general reactivity of the body. The obtained experimental data on a set of endocrinological and biochemical parameters indicate that lithium ascorbate in fattening pigs has a positive effect on their antioxidant status.

**Keywords:** pigs, anti-stress drugs, lithium ascorbate, catecholamines, cortisol, antioxidant status

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

**For citation:** Ostrenko K.S. Normothymic Effect of Lithium Ascorbate on Biomedical Models of Pigs. *Journal Biomed.* 2023;19(3):42–46. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-42-46>

Submitted 03.04.2023

Revised 16.07.2023

Published 10.09.2023

## Введение

Во многих странах мира для медико-биотехнологических исследовательских работ всё шире используют свиней. В мировой практике используют специально выведенные породы свиней и мини-свиней (в США — хормельские, хенфордские и т. д.) [8, 10]. Широко применяются в экспериментах и аборигенные породы свиней: в США — юкатанские и американо-эссекские. В Европе самая крупная ферма мини-свиней находится в Германии, где разводится геттингенская порода. Свиньи — эмоционально неустойчивые животные, с низкой резистентностью к стрессовым воздействиям. В связи с этим в качестве биомедицинской модели исследования на свиньях позволяют проверить длительное применение препаратов и их последствие [7].

В результате снижения интенсивности адаптивных реакций на все внешние раздражители ухудшается физиологическое состояние животных, нарушаются обменные процессы и ослабевают естественные защитные силы. Прежде всего это обусловлено развитием хронического стресса и его вредных последствий, которые становятся основными факторами снижения продуктивности [2]. Одним из ведущих адаптивных эффектов ответной реакции организма на стресс-факторы любой этиологии яв-

ляется предотвращение избыточной активации процессов перекисного окисления липидов [3]. В результате чего возникают многочисленные нарушения работы тканей и органов, приводящих к дестабилизации гомеостаза и возникновению ряда хронических заболеваний. Главную роль в успешном функционировании всех систем иммунобиологического статуса играют биооксиданты и микроэлементы [4–6, 9]. Потенцированное действие лития и аскорбиновой кислоты позволяет рассматривать его как один из путей регуляции активности процессов перекисного окисления [1].

## Материалы и методы

Исследования были проведены на базе вивария ВНИИ ФБиП животных. Исследования проводились на трёх группах свиней породы ирландский ландрас, по 10 голов в каждой. Опытные и контрольные группы были сформированы из поросят двухмесячного возраста по принципу параналогов. Рацион и технологический процесс не отличался от основной технологии откорма свиней. Аскорбат лития применялся вместе с кормом. В первой группе доза аскорбата лития составляла 10 мг/кг; во второй группе — 5 мг/кг; третья группа (контрольная) находилась на основном рационе без добавления субстанции. В двух- и шестимесячном возрасте у животных

проводили забор крови в вакуумные пробирки. В плазме крови были определены концентрации малонового диальдегида (нмоль/мл), восстановленного глутатиона (мкмоль/мл), окисленного глутатиона (мкмоль/мл), тиол-дисульфидное соотношение, активность супероксиддисмутазы (Ед.), активность глутатионпероксидазы (Ед.), адреналина (нмоль/мл); норадреналина (нмоль/мл), кортизола (нмоль/мл).

Биометрическую обработку полученного материала проводили с помощью программного обеспечения Statistica 8. Достоверной считали разницу между группами при  $p < 0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

Известно, что стресс сопровождается напряженной работой гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, эндокринных, нейромедиаторных и нейропептидных взаимодействий. В ходе исследования было установлено, что у животных опытных групп уровень кортизола был ниже чем в контрольной группе на 28 и 24% соответственно; уровень адреналина — на 59 и 54%, а норадреналина — на 55 и 54% ниже по сравнению с контролем. Это указывает на активацию симпатоадреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и подтверждает наличие стресса свиней контрольной группы в течение стандартного технологического про-

цесса выращивания. Результаты представлены в табл. 1.

При стрессе для энергообеспечения защитных реакций привлекается большое количество ненасыщенных жирных кислот и кислорода. Увеличение активности фосфолипаз происходит за счёт повышения уровня глюкокортикоидов, это и приводит к усилению процесса перекисного окисления липидов, который вызывает деградацию гормонов стресса. Вследствие этого организм животных вынужден отвечать усилением кортикотропной функции гипофиза [3].

Состояние антиоксидантного статуса и его оценки, а также показатели неспецифической резистентности отражает тиол-дисульфидное соотношение и система редукции глутатиона. В нашем исследовании было установлено, что антистрессовый эффект у свиней сопровождается повышением количества SH-групп в сыворотке крови. Данные представлены в табл. 2.

Таким образом, количество SH-групп в крови и тканях организма, обусловленное различными факторами, в большой степени отражает интенсивность обменных процессов, связанных с различной энергией роста и продуктивностью животных, а «пороговая» концентрация SH-групп в крови соответствует наибольшему проявлению способности к росту и продуктивности.

Животные опытных групп в возрасте 6 мес. (табл. 2) явно превосходили осталь-

**Таблица 1.** Показатели гормонального статуса ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

**Table 1.** Indicators of hormonal status ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Группы	Адреналин, мкг/л	Норадреналин, мкг/л	Кортизол, мкг/л
Возраст 2 мес.			
Аскорбат лития, 10 мг/кг	3,96±0,18	12,84±0,11	76,84±2,41
Аскорбат лития, 5 мг/кг	4,12±0,11	13,09±0,56	70,21±0,98
Контроль	3,87±0,19	12,06±0,68	73,41±1,99
Возраст 6 мес.			
Аскорбат лития, 10 мг/кг	5,01±0,14*	16,37±0,96*	102,72±12,98*
Аскорбат лития, 5 мг/кг	5,67±0,09*	16,98±1,12*	108,67±14,82*
Контроль	12,24±3,19	36,62±5,86	143,12±13,09

**Примечание:** \* —  $p < 0,05$  по  $t$ -критерию при сравнении с контролем.

**Note:** \* —  $p < 0,05$  by  $t$ -test when compared with control.

Таблица 2. Функциональное состояние системы редукции глутатиона в крови ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Table 2. Functional state of the glutathione reduction system in the blood ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Группы	SH	SS	SH/SS	МДА	СОД
Возраст 2 мес.					
Аскорбат лития, 10 мг/кг	0,57±0,26	0,23±0,04	2,48	3,95±0,43	648±24
Аскорбат лития, 5 мг/кг	0,60±0,14	0,18±0,01	3,33	4,01±0,67	652±34
Контроль	0,58±0,11	0,22±0,01	2,64	5,38±0,79	645±42
Возраст 6 мес.					
Аскорбат лития, 10 мг/кг	0,88±0,07*	0,26±0,09	3,38	2,94±0,26	821±48*
Аскорбат лития, 5 мг/кг	0,88±0,06*	0,28±0,04	2,93	2,90±0,14	736±31
Контроль	0,61±0,19	0,38±0,06	1,61	6,07±0,09	709±73

**Примечания:** SH — восстановленный глутатион + цистеин, мкмоль/мл; SS — окисленный глутатион + цистеин, мкмоль/мл; МДА — малоновый диальдегид, нмоль/мл; СОД — активность супероксиддисмутазы, Ед.; \* —  $p < 0,05$  по  $t$ -критерию при сравнении с контролем.

**Notes:** SH — reduced glutathione + cysteine,  $\mu\text{mol/ml}$ ; SS — oxidized glutathione + cysteine,  $\mu\text{mol/ml}$ ; МДА — malondialdehyde,  $\text{nmol/ml}$ ; СОД — superoxide dismutase activity, Units.; \* —  $p < 0.05$  by  $t$ -test when compared with control.

ных по содержанию SH-групп, величине тиол-дисульфидного соотношения и характеризовались наименьшей концентрацией вторичных продуктов перекисного окисления липидов в плазме в крови. При этом содержание SH- и SS-групп в плазме крови закономерно повышалось с возрастом (дисульфидных групп — в меньшей степени); в результате снижалась концентрация МДА. Возможно, эти эффекты обусловлены повышением активности антиоксидантной системы за счёт наличия в составе применяемого препарата аскорбиновой кислоты, которая является природным антиоксидантом. Выявлена синхронность изменения тиол-дисульфидного потенциала и продуктивности животных.

## Заключение

Повышение секреции катехоламинов мозговым слоем надпочечников вследствие стрессового воздействия свидетельствует об активации гипоталамо-гипофизарно-

надпочечниковой системы, что является фактором быстрого перехода организма от состояния покоя к возбуждению. В связи с чем активизируются компенсаторные функции для поддержания гомеостаза и замедляются процессы набора живой массы тела, что приводит к увеличению себестоимости конечной продукции. Таким образом, при введении с кормом аскорбата лития свиньям на откорме с двух- и до шестимесячного возраста в дозировке 5–10 мг/кг массы тела проявляется выраженное адаптогенное и стресспротекторное действие изучаемой субстанции, предотвращаются резкие выбросы адреналина и норадреналина, поддерживается на физиологическом уровне динамика кортизола в системном кровотоке. Выявленные эффекты аскорбата лития свидетельствуют о перспективности разработки новых эффективных способов повышения, неспецифической резистентности и антистрессового действия в медицине.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Галочкин В.А., Галочкина В.П., Остренко К.С. Разработка теоретических основ и создание антистрессовых препаратов нового поколения. *Сельскохозяйственная биология*. 2009;2:43–55. [Galochkin V.A., Galochkina V.P., Ostrenko K.S. Razrabotka teoreticheskikh osnov i sozdanie antistressovykh preparatov novogo pokoleniya [Development of theoretical foundations and creation of new generation anti-stress drugs]. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya [Agricultural biology]*. 2009;2:43–55. (In Russian)].
- Майстров В.И., Галочкина В.П. Антиоксидантно-антирадикальная и тиол-дисульфидная системы

- племенных бычков под влиянием комплекса биологически активных веществ. *Сельскохозяйственная биология*. 2006;2:64–68. [Maistrov V.I., Galochkina V.P. Antioxidantno-antiradikal'naya i tiol-disulfid'naya sistemy plemennykh bychkov pod vliyaniem kompleksa biologicheskii aktivnykh veshchestv [Antioxidant-antiradical and thiol-disulfide systems of breeding bulls under the influence of a complex of biologically active substances]. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya [Agricultural biology]*. 2006;2:64–68. (In Russian)].
3. Остренко К.С., Галочкин В.А., Колоскова Е.М., Галочкина В.П. Влияние нового микронутриента — аскорбата лития на стрессоустойчивость и продуктивность свиноматок. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2017;2:74–86. [Ostrenko K.S., Galochkin V.A., Koloskova E.M., Galochkina V.P. Vliyaniye novogo mikronutrienta — askorbata litiya na stressoustoychivost' i produktivnost' svinomatok [The influence of a new micronutrient — lithium ascorbate on stress resistance and productivity of sows]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh [Problems of productive animals biology]*. 2017;2: 74–86. (In Russian)].
  4. Петраков Е.С., Овчарова А.Н., Софронова О.В., Андреева И.Н. Влияние пробиотика на основе четырёх штаммов лактобацилл на неспецифическую резистентность и продуктивность телят-молочников. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2018;2:94–100. [Petrakov E.S., Ovcharova A.N., Sofronova O.V., Andreeva I.N. Vliyaniye probiotika na osnove chetyrekh shtammov laktobatsill na nespetsificheskuyu rezistentnost' i produktivnost' telyat-molochnikov [The effect of a probiotic based on four strains of lactobacilli on nonspecific resistance and productivity of dairy calves]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh [Problems of productive animals biology]*. 2018;2:94–100. (In Russian)].
  5. Bursać-Mitrović M., Milovanović D.R., Mitić R., Jovanović D., Sovrlić M., Vasiljević P., Tomović J., Manojlović N. Effects of l-ascorbic acid and alpha-tocopherol on biochemical parameters of swimming-induced oxidative stress in serum of guinea pigs. *Afr. J. Tradit. Complement Altern. Med.* 2016;13(4):29–33. DOI: 10.21010/ajtcam.v13i4.5.
  6. Charmandari E., Tsigos C., Chrousos G. Endocrinology of the stress response. *Annu. Rev. Physiol.* 2005;67:259–284. DOI: 10.1146/annurev.physiol.67.040403.120816.
  7. Islamov R.R., Sokolov M.E., Bashirov F.V., Fadeev F.O., Shmarov M.M., Naroditskiy B.S., Povysheva T.V., Shaymardanova G.F., Yakupov R.A., Chelyshev Y.A., Lavrov I.A. A pilot study of cell-mediated gene therapy for spinal cord injury in mini pigs. *Neurosci. Lett.* 2017;644:67–75. DOI: 10.1016/j.neulet.2017.02.034.
  8. Piñeiro C., Manso A., Manzanilla E.G., Morales J. Influence of sows' parity on performance and humoral immune response of the offspring. *Porcine Health Manag.* 2019;5:1. DOI: 10.1186/s40813-018-0111-8.
  9. Ramanathan K., Balakumar B.S., Panneerselvam C. Effects of ascorbic acid and alpha-tocopherol on arsenic-induced oxidative stress. *Hum. Exp. Toxicol.* 2002;21(12): 675–680. DOI: 10.1191/0960327102ht3070a.
  10. Roura E., Koopmans S.J., Lallès J.P., Le Huerou-Luron I., de Jager N., Schuurman T., Val-Laillet D. Critical review evaluating the pig as a model for human nutritional physiology. *Nutr. Res.* 2016;29(1): 60–90. DOI: 10.1017/S0954422416000020.

---

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ | INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

---

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

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

## СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД И АНАЛИЗ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ПОДХОДОВ К ЛЕЧЕНИЮ МЕЛАНОМЫ

А.В. Сафроненко<sup>1</sup>, О.М. Куделина<sup>1,\*</sup>, Е.В. Ганцгорн<sup>1</sup>, М.Х.-Б. Бураева<sup>1</sup>,  
М.Х.-Б. Бураева<sup>2</sup>, А.А. Митенева<sup>1</sup>, Л.Р. Швелидзе<sup>1</sup>, Д.А. Калмыкова<sup>1</sup>,  
А.А. Ильина<sup>1</sup>, В.З. Лачинов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России  
344022, Российская Федерация, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29

<sup>2</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России  
344037, Российская Федерация, Ростов-на-Дону, ул. 14-я Линия, 63

Меланома — злокачественная опухоль, способная быстро приобретать резистентность к лечению из-за высокой мутационной активности. Внедрение в клиническую практику ингибиторов тирозинкиназных рецепторов (BRAF, MEK) и ингибиторов антигенов/рецепторов цитотоксических Т-лимфоцитов (CTLA4, PD-1) привело к увеличению показателей выживаемости пациентов. В исследованиях *in vitro* комбинирование ингибиторов PI3K и MEK демонстрирует выраженное снижение роста опухолевых клеток. Перспективным методом является и использование феномена синтетической летальности, что позволит использовать высокую мутационную нагрузку меланомы как инструмент для разработки более эффективных лекарственных средств.

**Ключевые слова:** меланома, BRAF-ингибитор, анти-PD-1, анти-CTLA4, CDK4/6-ингибитор, синтетическая летальность

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

**Для цитирования:** Сафроненко А.В., Куделина О.М., Ганцгорн Е.В., Бураева М.Х.-Б., Бураева М.Х.-Б., Митенева А.А., Швелидзе Л.Р., Калмыкова Д.А., Ильина А.А., Лачинов В.З. Современный взгляд и анализ перспективных подходов к лечению меланомы. *Биомедицина*. 2023;19(3):47–52. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-47-52>

Поступила 10.04.2023

Принята после доработки 13.04.2023

Опубликована 10.09.2023

## MODERN VIEWS AND ANALYSIS OF PROMISING APPROACHES TO THE TREATMENT OF MELANOMA

Andrey V. Safronenko<sup>1</sup>, Oksana M. Kudelina<sup>1,\*</sup>, Elena V. Gantsgorn<sup>1</sup>,  
Maret Kh.-B. Buraeva<sup>1</sup>, Malika Kh.-B. Buraeva<sup>2</sup>, Anna A. Miteneva<sup>1</sup>, Luka R. Shvelidze<sup>1</sup>,  
Darya A. Kalmykova<sup>1</sup>, Alisa A. Ilyina<sup>1</sup>, Vadim Z. Lachinov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia  
344037, Russian Federation, Rostov-on-Don, Nahichevansky Ave., 29

<sup>2</sup> National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health Care of Russia  
344037, Russian Federation, Rostov-on-Don, 14-th Line Str., 63

Melanoma is a malignant tumor that can rapidly develop resistance to treatment because of its high mutational activity. The introduction of tyrosine kinase receptor inhibitors (BRAF, MEK) and cytotoxic T lymphocyte antigen/receptor inhibitors (CTLA4, PD-1) into clinical practice has led to an increase in patient survival rates. In vitro studies, combining PIK3 and MEK inhibitors demonstrate a pronounced reduction in tumor cell growth. The phenomenon of synthetic lethality is also promising, allowing the high mutational load of melanoma to be used as a tool for the development of more effective drugs.

**Keywords:** melanoma, BRAF inhibitor, anti-PD-1, anti-CTLA4, CDK4/6 inhibitor, synthetic lethality

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

**For citation:** Safronenko A.V., Kudelina O.M., Gantsgorn E.V., Buraeva M.Kh.-B., Buraeva M.Kh.-B., Miteneva A.A., Shvelidze L.R., Kalmykova D.A., Ilyina A.A., Lachinov V.Z. Modern Views and Analysis of Promising Approaches to the Treatment of Melanoma. *Journal Biomed.* 2023;19(3):47–52. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-47-52>

Submitted 10.04.2023

Revised 13.04.2023

Published 10.09.2023

### Распространённость меланомы в популяции

Меланома кожи — это опухоль нейроэктодермального происхождения, возникающая в результате злокачественной трансформации меланоцитов кожи. В 2021 г. в Российской Федерации меланомой кожи заболело 11412 человек. В структуре заболеваемости меланома кожи в 2021 г. составила 1,5% у мужчин и 2,2% у женщин. Кумулятивный риск развития меланомы кожи на период 2011–2021 гг. для людей в возрасте 0–74 лет составил 0,52% [1].

### Стандартная терапия меланомы

В настоящее время против меланомы разработана таргетная терапия: лекарственные средства (ЛС), действующие на активность BRAF-киназы, — вемурафениб и дабрафениб, направленные на прерывание каскада MAPK. Однако у больных при монотерапии BRAFi (ингибитор) развивается резистентность, связанная с мутацией других генов, что в итоге приводит к реактивации MAPK/ERK-сигнального пути. Для предотвращения его активации применяют комбинированную терапию «BRAFi + MEKi». К таким сочетаниям относятся: «дабрафениб + траметиниб» и «вемурафениб + кобиметиниб» [2].

Благодаря развитию молекулярной биологии опухолей появилось два новых класса ЛС: ингибиторы тирозинкиназных рецепторов (BRAF, MEK) и ингибиторы антигенов/рецепторов цитотоксических Т-лимфоцитов (CTLA4, PD-1). В 2011 г. учёные США зарегистрировали ипилимумаб (анти-CTLA4) и вемурафениб (BRAF-ингибитор) для лечения диссеминированной меланомы кожи. Оба ЛС впервые продемонстрировали увеличение общей выживаемости (ОВ) пациентов в сравнении со стандартной химиотерапией [4].

NRAS-меланома на сегодняшний день не поддаётся таргетной терапии, т. к. ингибиторы BRAF вызывают быструю резистентность опухолевых клеток, а ингибиторы непосредственно RAS ещё не разработаны.

Для терапии KIT-меланомы зарегистрировано всего 9 ЛС — ингибиторов кодируемого этим геном белка: иматиниб, сунитиниб, дазатиниб, нилотиниб, сорафениб, регорафениб, авапритиниб, рипретиниб и мидостаурин. Несмотря на относительно большое количество, практически все данные ЛС не показали достаточную эффективность, в отличие от анти-PD-1 и анти-CTLA4 [2].

PD-1 и CTLA4 являются главными рецепторами, которые участвуют в форми-

ровании противоопухолевого иммунитета. Опухолевые клетки экспрессируют лиганд PDL-1, распознавание которого рецептором PD-1 CD8+ Т-лимфоцитов приводит к подавлению иммунитета. CTLA4-рецептор взаимодействует с ингибирующим белком и способствует супрессии иммунного ответа, подавляя пролиферацию лимфоцитов. По результатам клинических исследований было подтверждено преимущество комбинированного применения анти-PD1 и анти-CTLA4 [8].

### **Перспективные направления в повышении эффективности таргетной терапии при лечении меланомы**

Новой таргетной мишенью в терапии меланомы стали CDK4/6 — киназы, фосфорилирующие белок-супрессор опухоли ретинобластомы (RB), который в свою очередь связывается с факторами транскрипции и приводит к активации клеточного цикла, перехода G<sub>1</sub>-S и неконтролируемой пролиферации. CDK4/6i (палбоциклиб, рибоциклиб, абемациклиб) активно используются в терапии неходжкинских лимфом, раке молочной железы. Однако монотерапия привела к развитию резистентности, что характерно для таргетных препаратов. Следовательно, было сделано предположение, что комбинированная схема лечения может быть более эффективной, чем монотерапия [5].

Достаточно весомые и многообещающие результаты были достигнуты в открытом исследовании фазы Ib/II комбинацией «рибоциклиб (ингибитор CDK4/6) + биниметиниб (MEKi)» у пациентов с меланомой с мутацией NRAS. Общий показатель ответа у пациентов (n=41) фазы II для выбранной дозы (биниметиниб, 45 мг, 2 раза/день + рибоциклиб, 200 мг, 1 раз/день, курс лечения — 21 день, 7 дней перерыв) составил 19,5%. Частота ответа составила 32,5% у пациентов с мутацией NRAS с сопутствующими изменениями CDKN2A, CDK4

или CCND1. Медиана выживаемости без прогрессирования составила 3,7 мес., а медиана ОБ была равна 11,3 мес. для всех пациентов. Полученные данные могут быть основанием для назначения вышеуказанной комбинации при терапии NRAS меланомы [7].

Изучается применение селективного ингибитора PI3K-бета GSK2636771 в комбинации с пембролизумабом у пациентов с метастатической меланомой и потерей PTEN (NCT03131908). Имеются данные, что комбинирование ингибиторов PI3K и MEK *in vitro* демонстрирует усиленное снижение роста опухолевых клеток. Такие результаты объясняются тем, что при монотерапии активируются параллельные пути защиты, приводящие к резистентности, в то время как при комбинированной терапии блокируются все обходные механизмы опухолевой пролиферации, и эффективность терапии существенно повышается.

### **Синтетическая летальность — новый подход к терапии меланомы**

Синтетическая летальность — определённое сочетание мутаций двух генов, приводящее к гибели клетки (апоптозу). При недостатке функции одного гена, для сохранения жизнеспособности, в клетке включается второй ген, компенсирующий недостаточность первого, и она становится зависима от второго гена. При воздействии на него происходит полное угнетение жизненно необходимых процессов [11].

Первыми зарегистрированными ЛС, основанными на принципе синтетической летальности, являются PARPi (нирапариб, олапариб, рукапариб, талазопариб). Действие PARPi основано на ингибировании АДФ-рибоза-полимеразы, которая является регулятором эксцизионной репарации оснований повреждённой ДНК в опухоли, её выключение приводит к коллапсу репликационной «вилки» и гибели клеток. Это ингибирование действует толь-

ко при наличии мутации в *BRCA1/2*, относящихся к группе генов репарации ДНК (homologous recombination repair, HRR) [3].

Мутация *PTEN* приводит к зависимости клеток от *APE1*, белка, ответственного за базовую эксцизионную репарацию в них. Блокирование репарирующего ДНК пути приводит к синтетической летальности в раковых клетках. Было проведено исследование фазы I, нацеленное на сигнальный белок репарации ДНК *APE1/Ref-1* с помощью ингибитора *APX3330*, у пациентов с запущенными солидными опухолями (NCT03375086). По результатам исследования у больных меланомой наблюдалась стабилизация заболевания, что является основанием для дальнейших исследований *APE1/Ref-1i* [4].

Для *BRAF V600E*-мутантной меланомы были предложены два потенциальных партнёра синтетической летальности: *ГМГ-КоА-синтаза1* и *ГМГ-КоА-лиаза*. Было обнаружено, что эти ферменты участвуют в *BRAF V600E*-зависимом фосфорилировании *MEK1* в мутантных клетках. При исследованиях *in vitro* отмечалось увеличение фосфорилирования *MEK1* в присутствии ацетоацетата. Недостатком результатов исследований была специфичность — реагировали на ингибирование *ГМГ-КоА-синтазы* только раковые клетки, экспрессирующие *BRAF V600E/D* [5]. Пока ещё нерешённой проблемой является разработка подходящего для противоопухолевой терапии ингибитора.

В *RAS*-мутантных опухолях, включая меланому и множественную миелому, важную роль играет активность киназы зародышевого центра (*GCK*). Это было доказано тем, что при ингибировании *GCK* у мышей с подкожной опухолью, вызванной имплантацией клеток множественной миеломы, наблюдалось достоверное уменьшение ( $p < 0,001$ ) объёма опухоли на 80% и её массы на 95% спустя 38 дней. При исследовании линий клеток мелано-

мы на различных фазах прогрессирования было выявлено, что увеличение экспрессии *TRAF2/GCK* на поздней стадии приводит к нарастающему повышению устойчивости к индуцированному УФ-излучением *Fas*-опосредованному апоптозу. И наоборот, низкая экспрессия *TRAF2/GCK* на ранней стадии меланомы приводила к снижению защиты от повреждающих клетку факторов. Исследование способов воздействия на *GCK* — это важное направление, т. к. для лечения *RAS*-мутантной меланомы ещё не разработана таргетная терапия, а комбинированная терапия *MEK1/анти-PD1* и *MEK1/CDK4/6i*, несмотря на эффективность в первое время, приводит к развитию толерантности к этим препаратам [6].

Клетки меланомы с дефектом контрольной точки  $G_1$ -S, т. е. с гиперактивностью *CDK4/6*, представляют собой ещё одну перспективную мишень для применения синтетической летальности. Ингибирование  $G_2$ -M препятствует способности опухолевых клеток восстанавливать повреждения ДНК и приводит их к апоптозу. Переход клеточного цикла  $G_2$ -M опосредуется *CHK1*, *MK2*, *WEE1* и *HDAC*. *CHK1i* и *WEE1i* повышают чувствительность опухоли к повреждающим факторам и требуют сочетания с химиотерапией или радиотерапией, в то же время их комбинация, исследованная *in vitro*, показала усиление апоптоза в клеточных линиях меланомы [5].

## Закключение

Таким образом, главная проблема лечения меланомы — это огромная мутационная нагрузка, которая является причиной резистентности ко всем применяемым ЛС для её терапии. Исследование новых таргетных мишеней, например таких как *CDK4/6*, *PIK3*, позволит применять новые схемы комбинаций противоопухолевых ЛС и отсрочить развитие резистентности опухоли.

Однако результаты многочисленных исследований наглядно свидетельствуют,

что мутационная нагрузка создаёт условия для новых фармакологических открытий на основе синтетической летальности. Поэтому дальнейшее изучение феномена синтетической летальности на основе та-

ких точек приложения, как APE1/Ref-1, G2-M, GCK, ГМГ-КоА синтаза1 и ГМГ-КоА-лиаза, на наш взгляд, представляет собой большие перспективы в развитии фармако-терапии меланомы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. *Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность)*. М., МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022:252. [Kaprin A.D., Starinskii V.V., Shahzadova A.O. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2021 godu (zabolevaemost' i smertnost')* [Malignant neoplasms in Russia in 2021 (morbidity and mortality)]. Moscow: National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health Care of Russia, 2022:252. (In Russian)].
2. Ассоциация онкологов России, Ассоциация специалистов по проблемам меланомы, Общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии». *Меланома кожи и слизистых оболочек: клинические рекомендации*. М., 2020. [Association of Oncologists of Russia, Russian Melanoma Professional Association “Melanoma. PRO”, Russian Society of Clinical Oncology. *Melanoma kozhi i slizistykh obolochek: klinicheskie rekomendatsii* [Melanoma of the skin and mucous: clinical guidelines]. Moscow, 2020. (In Russian)].
3. Стукань А.И., Горяинова А.Ю., Шаров С.В. Причины резистентности к PARP-ингибированию и возможности её преодоления. Клинический случай агрессивного течения BRCA-ассоциированного рака молочной железы. *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2022;18(1):54–65. [Stukan' A.I., Goryainov A.Yu., Sharov S.V. Prichiny rezistentnosti k PARP-ingibirovaniyu i vozmozhnosti ee preodoleniya. Klinicheskiy sluchay agressivnogo techeniya BRCA-assotsiirovannogo raka molochnoy zhelezy [Causes of resistance to PARP inhibitors and ways to overcome it. Case report of aggressive BRCA-related breast cancer]. *Opukholi zhenskoy reproduktivnoy sistemy* [Tumors of female reproductive system]. 2022;18(1):54–65. (In Russian)]. DOI: 10.17650/1994-4098-2022-18-1-54-65.
4. Hartman G.D., Lambert-Cheatham N.A., Kelley M.R., Corson T.W. Inhibition of APE1/Ref-1 for neovascular eye diseases: From biology to therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(19):10279. DOI: 10.3390/ijms221910279.
5. Lelliott E.J., McArthur G.A., Oliaro J., Sheppard K.E. Immunomodulatory effects of BRAF, MEK, and CDK4/6 inhibitors: Implications for combining targeted therapy and immune checkpoint blockade for the treatment of melanoma. *Front. Immunol.* 2021;12:661737. DOI: 10.3389/fimmu.2021.661737.
6. Li S., Fu J., Yang J., Ma H., Bhutani D., Mapara M.Y., Marcireau C., Lentzsch S. Targeting the GCK pathway: A novel and selective therapeutic strategy against RAS-mutated multiple myeloma. *Blood.* 2021;137(13):1754–1764. DOI: 10.1182/blood.2020006334.
7. Schuler M., Zimmer L., Kim K.B., Sosman J.A., Ascierto P.A., Postow M.A., De Vos F.Y.F.L., van Herpen C.M.L., Carlino M.S., Johnson D.B., Berking C., Reddy M.B., Harney A.S., Berlin J.D., Amaria R.N. Phase Ib/II trial of ribociclib in combination with binimetinib in patients with NRAS-mutant melanoma. *Clin. Cancer Res.* 2022;28(14):3002–3010. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-21-3872.
8. Wolchok J.D., Chiarion-Sileni V., Gonzalez R., Grob J.J., Rutkowski P., Lao C.D., Cowey C.L., Schadendorf D., Wagstaff J., Dummer R., Ferrucci P.F., Smylie M., Butler M.O., Hill A., Márquez-Rodas I., Haanen J.B.A.G., Guidoboni M., Maio M., Schöffski P., Carlino M.S., Lebbé C., McArthur G., Ascierto P.A., Daniels G.A., Long G.V., Bas T., Ritchings C., Larkin J., Hodi F.S. Long-term outcomes with nivolumab plus ipilimumab or nivolumab alone versus ipilimumab in patients with advanced melanoma. *J. Clin. Oncol.* 2022;40(2):127–137. DOI: 10.1200/JCO.21.02229.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Сафроненко Андрей Владимирович**, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;

**e-mail: andrejsaf@mail.ru**

**Andrey V. Safronenko**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;

**e-mail: andrejsaf@mail.ru**

**Куделина Оксана Михайловна\***, к.м.н.,  
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный ме-  
дицинский университет» Минздрава России;  
[e-mail: kuomi81@mail.ru](mailto:kuomi81@mail.ru)

**Oksana M. Kudelina\***, Cand. Sci. (Med.), Rostov  
State Medical University of the Ministry of Health  
Care of Russia;  
[e-mail: kuomi81@mail.ru](mailto:kuomi81@mail.ru)

**Ганцгорн Елена Владимировна**, к.м.н., доц.,  
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный ме-  
дицинский университет» Минздрава России;  
[e-mail: gantsgorn@inbox.ru](mailto:gantsgorn@inbox.ru)

**Elena V. Gantsgorn**, Cand. Sci. (Med.), Assoc.  
Prof., Rostov State Medical University of the  
Ministry of Health Care of Russia;  
[e-mail: gantsgorn@inbox.ru](mailto:gantsgorn@inbox.ru)

**Буряева Марет Хаваж-Баудиевна**, ФГБОУ  
ВО «Ростовский государственный медицинский  
университет» Минздрава России;  
[e-mail: meriberskaa@gmail.com](mailto:meriberskaa@gmail.com)

**Maret Kh.-B. Burayeva**, Rostov State Medical  
University of the Ministry of Health Care of Russia;  
[e-mail: meriberskaa@gmail.com](mailto:meriberskaa@gmail.com)

**Буряева Малика Хаваж-Баудиевна**, ФГБУ  
«Национальный медицинский исследовате-  
льский центр онкологии» Минздрава России;  
[e-mail: malika\\_buraeva@mail.ru](mailto:malika_buraeva@mail.ru)

**Malika Kh.-B. Burayeva**, Resident, National  
Medical Research Centre for Oncology of the  
Ministry of Health Care of Russia;  
[e-mail: malika\\_buraeva@mail.ru](mailto:malika_buraeva@mail.ru)

**Митенева Анна Александровна**, ФГБОУ ВО  
«Ростовский государственный медицинский  
университет» Минздрава России;  
[e-mail: miteneva.2002@mail.ru](mailto:miteneva.2002@mail.ru)

**Anna A. Miteneva**, Rostov State Medical  
University of the Ministry of Health Care of Russia;  
[e-mail: miteneva.2002@mail.ru](mailto:miteneva.2002@mail.ru)

**Швелидзе Лука Романович**, ФГБОУ ВО  
«Ростовский государственный медицинский  
университет» Минздрава России;  
[e-mail: shvelidze-2002@mail.ru](mailto:shvelidze-2002@mail.ru)

**Luka R. Shvelidze**, Rostov State Medical  
University of the Ministry of Health Care of Russia;  
[e-mail: shvelidze-2002@mail.ru](mailto:shvelidze-2002@mail.ru)

**Калмыкова Дарья Алексеевна**, ФГБОУ ВО  
«Ростовский государственный медицинский  
университет» Минздрава России

**Darya A. Kalmykova**, Rostov State Medical  
University of the Ministry of Health Care of Russia

**Ильина Алиса Александровна**, ФГБОУ ВО  
«Ростовский государственный медицинский  
университет» Минздрава России

**Alisa A. Pyina**, Rostov State Medical University of  
the Ministry of Health Care of Russia

**Лачинов Вадим Закараевич**, ФГБОУ ВО  
«Ростовский государственный медицинский  
университет» Минздрава России;  
[e-mail: vadim.lachinov20@mail.ru](mailto:vadim.lachinov20@mail.ru)

**Vadim Z. Lachinov**, Rostov State Medical  
University of the Ministry of Health Care of Russia;  
[e-mail: vadim.lachinov20@mail.ru](mailto:vadim.lachinov20@mail.ru)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



## МЕТОДИКА АНАЛИЗА ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Н.С. Тропская<sup>1,2,\*</sup>, О.В. Разбицкая<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»  
129090, Российская Федерация, Москва, Б. Сухаревская пл., 3

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет)»  
125993, Российская Федерация, Москва, Волоколамское ш., 4

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «МИРЭА — Российский технологический университет»  
119454, Российская Федерация, Москва, просп. Вернадского, 78

Разработана методика анализа ЭЭГ в эксперименте, включающая построение тренда частотного спектра, определение спектральной мощности сигнала в стандартных диапазонах частот с последующей нормировкой по максимальному значению по всем каналам и по всем частотным диапазонам. Такая методика позволяет проводить сравнительный анализ данных в любой интервал времени, оценить динамику изменения каждого из основных ритмов ЭЭГ, выявить наличие лобно-затылочного градиента и межполушарной асимметрии, оценить значения интегрального индекса, отражающего соотношение высоко- и низкочастотных ритмов.

**Ключевые слова:** электроэнцефалограмма, спектральная мощность сигнала, крысы, тиопентал натрия  
**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Тропская Н.С., Разбицкая О.В. Методика анализа электрической активности головного мозга в экспериментах на лабораторных животных. *Биомедицина*. 2023;19(3):53–57. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-53-57>

Поступила 20.03.2023

Принята после доработки 22.07.2023

Опубликована 10.09.2023

## TECHNIQUE FOR MEASURING ELECTRICAL ACTIVITY OF THE BRAIN IN EXPERIMENTS ON LABORATORY ANIMALS

Nataliya S. Tropkaya<sup>1,2,\*</sup>, Olga V. Razbitskaya<sup>3</sup>

<sup>1</sup> N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Care Department  
129090, Russian Federation, Moscow, Bolshaya Sukharevskaya Sq., 3

<sup>2</sup> Moscow Aviation Institute (National Research University)  
125993, Russian Federation, Moscow, Volokolamskoe Highway, 4

<sup>3</sup> MIREA — Russian Technological University  
119454, Russian Federation, Moscow, Vernadskogo Ave., 78

This article presents a technique for experimental EEG analysis, which includes construction of a frequency spectrum trend, determination of the spectral power of signals in standard frequency ranges, followed by normalization by the maximum value in all channels and in all frequency ranges. This technique can be

used to carry out a comparative analysis of data in any time interval, to evaluate the dynamics of changes in each of the main EEG rhythms, to identify the presence of a fronto-occipital gradient and interhemispheric asymmetry, and to evaluate the values of the integral index, which reflects the ratio of high- and low-frequency rhythms.

**Keywords:** electroencephalogram, spectral signal power, rats, sodium thiopental

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

**For citation:** Tropaskaya N.S., Razbitskaya O.V. Technique for Measuring Electrical Activity of the Brain in Experiments on Laboratory Animals. *Journal Biomed.* 2023;19(3):53–57. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-53-57>

Submitted 20.03.2023

Revised 22.07.2023

Published 10.09.2023

## Введение

Для оценки электрической активности головного мозга — как в экспериментах на животных, так и в клинической практике — широко применяется метод электроэнцефалографии (ЭЭГ) [1, 4]. В связи с тем, что регистрация ЭЭГ производится со множества отведений, а также тот факт, что сигнал ЭЭГ является сложным и многокомпонентным, анализ ЭЭГ является трудоёмким процессом. При длительной регистрации с последующей обработкой сигналов образуется огромный массив данных, что создаёт дополнительные сложности для их анализа. Кроме того, амплитуда низкочастотных ритмов превышает амплитуду высокочастотных ритмов, и при применении спектрального анализа с быстрым преобразованием Фурье получаемые спектральные оценки мощности трудно сравнимы между собой в разных частотных диапазонах. Исследователи применяют различные способы преобразования спектральной мощности сигнала, чаще всего используя принцип нормирования значений, полученных до какого-либо воздействия к фоновым [2, 3]. Однако такой способ не является универсальным. Поэтому создание алгоритма анализа ЭЭГ для оценки состояния электрической активности головного мозга остаётся актуальной задачей.

## Материалы и методы

Экспериментальные исследования выполнены на 10 крысах-самцах линии Wistar массой тела 400–450 г в возрасте 12 мес. Протокол исследования был одобрен локальным комитетом по биомедицинской этике НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. Крысы адаптировались в течение 1 мес. в виварии. Все животные содержались в лаборатории в контролируемых условиях окружающей среды при температуре 20–24 °С и влажности 45–65%, с режимом освещенности с 8:00 до 20:00 — свет, с 20:00 до 8:00 — сумеречное освещение.

Всем крысам вводили депримирующий агент — тиопентал натрия в дозе 85 мг/кг массы животного внутривенно. Токсикант вводился однократно. Регистрацию ЭЭГ осуществляли в течение 6 ч после введения токсиканта.

Для регистрации ЭЭГ у животных были использованы игольчатые монополярные электроды серии EL452. Голову крысы размещали в головодержателе и подкожно устанавливали 6 электродов попарно в лобной, теменной и затылочной части головы, а также дополнительно — референтный электрод в области носа и заземляющий электрод — в области бедра. Для записи ЭЭГ использовался аппаратно-программный комплекс MP150 («Biopac Systems Inc.», США).

Методика анализа ЭЭГ заключалась в следующем:

- Для визуализации интегральной картины электрической активности головного мозга за весь 6-часовой эксперимент выполняли построение тренда частотного спектра (density spectral array, DSA) — изменение усреднённой амплитуды спектра мощности по каждому полушарию в каждый момент времени, используя программу Нейрон-Спектр.NET.

- Выполняли расчёт спектральной мощности сигналов электрической активности головного мозга за каждые 30 мин записи по каждому каналу в программе AcqKnowledge в стандартных физиологических диапазонах частот: дельта ( $\Delta$ ) — 1–4 Гц, тета ( $\theta$ ) — 4,25–8 Гц, альфа ( $\alpha$ ) — 8,25–13 Гц, бета ( $\beta$ ) — 13,25–30 Гц.

- Все рассчитанные значения спектральной мощности сигналов электрической активности мозга нормировали по максимальному значению по всем каналам и по всем частотным диапазонам и анализировали с помощью временных гистограмм.

- Оценивали по нормированным значениям спектральной мощности межполушарную асимметрию и лобно-затылочный градиент.

- Рассчитывали индекс соотношения нормированных значений спектральной мощности высоко- и низкочастотных ритмов:  $I = (\alpha + \beta) / (\Delta + \theta)$ .

## Результаты и их обсуждение

После введения токсиканта в течение 6 ч из 10 животных двое погибли.

У животных с благоприятным исходом выявлены следующие общие признаки ЭЭГ. На протяжении всего периода наблюдения (6 ч после введения токсиканта) наблюдалось преобладание  $\Delta$ -ритма во всех исследуемых отделах коры головного мозга. При этом спектральная мощность сигнала уменьшалась от низкочастотных к высоко-

частотным ритмам:  $\Delta > \theta > \alpha \geq \beta$ . Отмечалось наличие повышающегося лобно-затылочного градиента спектральной мощности во всех частотных диапазонах как в левом, так и правом полушариях коры головного мозга. Диапазон значений интегрального индекса, отражающего соотношение высоко- и низкочастотных ритмов, составлял 0,2–0,6. Непостоянные признаки ЭЭГ у этих животных были характерны для межполушарной асимметрии. Наблюдались следующие варианты: асимметрия ритмов отсутствует — активность распределялась диффузно, без чётких зональных различий; асимметрия наблюдалась во всех частотных диапазонах либо в лобных, либо в теменных долях с преобладанием спектральной мощности сигнала в левом полушарии коры головного мозга.

Выявлены ранние признаки пробуждения (в пределах 3 ч после введения токсиканта): усиление спектральной мощности  $\alpha$ -ритма на фоне преобладания  $\Delta$ -ритма во всех исследуемых отделах коры головного мозга ( $\Delta > \alpha > \theta = \beta$ ), наличие повышающегося лобно-затылочного градиента спектральной мощности во всех частотных диапазонах только в правом полушарии коры головного мозга, наличие межполушарной асимметрии во всех частотных диапазонах в лобных долях с преобладанием спектральной мощности сигнала в левом полушарии. Диапазон значений интегрального индекса составлял от 0,4 до 1, что свидетельствовало об увеличении высокочастотной составляющей на ЭЭГ (в данном случае,  $\alpha$ -ритма) и о начавшемся процессе восстановления сознания.

Установлены прогностические признаки неблагоприятного исхода при отравлении токсикантом: резкое снижение спектральной мощности сигнала в левой затылочной доле в диапазоне частот  $\Delta$ -ритма и изменение последовательности мощности ритмов в диапазонах:  $\theta > \alpha = \beta > \Delta$ . Такие

изменения сопровождаются увеличением интегрального индекса до 0,7. В левом полушарии наблюдалось исчезновение лобно-затылочного градиента спектральной мощности в  $\Delta$ -диапазоне. Появление межполушарной асимметрии в  $\Delta$ -диапазоне в лобных долях с преобладанием спектральной мощности сигнала в левом полушарии и в затылочных долях с преобладанием (в несколько раз) спектральной мощности сигнала в правом полушарии. Накануне смерти значения индекса составляли 0,1–0,3.

## Выводы

Разработанная методика анализа ЭЭГ, включающая построение тренда частотного спектра, определение спектральной мощности сигнала в стандартных диапазонах частот с последующей нормировкой по максимальному значению по всем каналам и по всем частотным диапазонам, позволяет отследить динамику изменения каждого из основных ритмов ЭЭГ, наличие лобно-затылочного градиента и межполушарную асимметрию, значения интегрального индекса, отражающего соотношение высоко- и низкочастотных ритмов, что позволяет прогнозировать исход острого отравления токсикантами.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Александров М.В., Повалюхина Е.С., Александрова Т.В., Иванов Л.Б., Черный В.С. Электроэнцефалографический паттерн пробуждения при тяжелых отравлениях этанолом. *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова*. 2019;11(2):5–12. [Aleksandrov M.V., Povalyuhina E.S., Aleksandrova T.V., Ivanov L.B., Chernyj V.S. Elektroentsefalo-graficheskiy pattern probuzhdeniya pri tyazhelykh otravleniyakh etanolom [Electroencephalographic arousal pattern in severe alcohol poisoning]. *Vestnik Severo-Zapadnogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta im. I.I. Mechnikova* [Herald of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov]. 2019;11(2):5–12. (In Russian)]. DOI: 10.17816/mechnikov20191125-12.
2. Каркищенко Н.Н., Сахаров Д.С., Филиппов А.А., Соколов И.Б. Изменения спектральной мощности ЭЭГ крыс после интраперитонеального введения фторсодержащих производных фуллерена-60. *Биомедицина*. 2009;1(1):38–48. [Karkischenko N.N., Saharov D.S., Filippov A.A., Sokolov I.B. Izmeneniya spektral'noy moshchnosti EEG krysy posle intraperitoneal'nogo vvedeniya ftorsoderzhashchikh proizvodnykh fullerena-60 [The changes of EEG power spectra after intraperitoneal injection of fluorine-containing C60 fullerene derivatives]. *Biomeditsina* [Journal Biomed]. 2009;1(1):38–48. (In Russian)].
3. Фокин Ю.В., Борисова М.М., Харитонов С.Ю. Нейровизуализация интрацентральных отношений головного мозга кошек посредством нормализации электрограмм при действии семакса. *Биомедицина*. 2021;17(3):74–78. [Fokin Yu.V., Borisova M.M., Kharitonov S.Yu. Neyrovizualizatsiya intratsentral'nykh otnosheniy golovnogo mozga koshek posredstvom normalizatsii elektrogramm pri deystvii semaksa [Neuroimaging of the intracranial brain of cats by normalization of electrograms under the action of semax]. *Biomeditsina* [Journal Biomed]. 2021;17(3):74–78. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-17-3-74-78.
4. Харченко А.В., Цветовский С.Б., Филиппенко М.Л., Фоменко В.В., Ступак В.В. Реакции электрической активности мозга животных на имплантаты различного типа, используемые для замещения дефектов твердой мозговой оболочки. *Политравма*. 2022;1:72–83. [Harchenko A.V., Cvetovskij S.B., Filipenko M.L., Fomenko V.V., Stupak V.V. Reaktsii elektricheskoy aktivnosti mozga zhivotnykh na implantaty razlichnogo tipa, ispol'zuemye dlya zameshcheniya defektov tverдой mozgovoy obolochki [Animals' brain electrical activity reactions to various types of implants used to replace defects in the dura mater]. *Politravma* [Polytrauma]. 2022;1:72–83. (In Russian)].

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Тропская Наталия Сергеевна\***, д.б.н., ГБУЗ  
«Научно-исследовательский институт скорой по-  
мощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»; ФГБОУ  
ВО «Московский авиационный институт (нацио-  
нальный исследовательский университет)»;

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

**Nataliya S. Tropuskaya\***, Dr. Sci. (Biol.), N.V. Skli-  
fosovsky Research Institute for Emergency Medicine  
of the Moscow Health Care Department; Moscow  
Aviation Institute (National Research University);

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

**Разбицкая Ольга Вячеславовна**, ФГБОУ ВО  
«МИРЭА — Российский технологический уни-  
верситет»;

**e-mail: [ovr1131@mail.ru](mailto:ovr1131@mail.ru)**

**Olga V. Razbitskaya**, MIREA — Russian Technolo-  
gical University;

**e-mail: [ovr1131@mail.ru](mailto:ovr1131@mail.ru)**

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



## ФАРМАКО-ЭЭГ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ НА ГИППОКАМП КОШЕК АЦЕТИЛХОЛИНА И ИНСУЛИНА В НАНОЧАСТИЦАХ

Ю.В. Фокин\*, С.Ю. Харитонов, Л.А. Табоякова, 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 ацетилхолина и инсулина в наночастицах при транспалатинальном введении кошкам с помощью алгоритма нейровизуализации — программного фармако-ЭЭГ анализа графических функций нормированных электрограмм. Показано их преимущественно депримирующее действие, начинающееся на первых часах после введения. Липосомированные формы ацетилхолина и инсулина проникают через гематоэнцефалический барьер и модулируют интрацентральные отношения головного мозга, отражающиеся в высокочастотных ритмах (преимущественно  $\gamma$ -диапазона) гиппокампального отдела головного мозга и связанные с активностью вставочных нейронов и пирамидных клеток. Тестируемые вещества перспективны в качестве инновационных средств профилактики и лечения нейропатий, вызванных в т. ч. гериатрической дисфункцией холинэргической и инсулиновой сигнальной систем, для улучшения консолидации памяти и когнитивных функций.

**Ключевые слова:** нейровизуализация, электрограммы головного мозга, фармако-ЭЭГ, нормирование/нормализация электрограмм мозга (НЭМ), быстрое преобразование Фурье (БПФ), ацетилхолин, инсулин, липосомы, гиппокамп, кошки

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

**Для цитирования:** Фокин Ю.В., Харитонов С.Ю., Табоякова Л.А., Каркищенко Н.Н. Фармако-ЭЭГ анализ влияния на гиппокамп кошек ацетилхолина и инсулина в наночастицах. *Биомедицина*. 2023;19(3):58–65. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-58-65>

Поступила 20.03.2023

Принята после доработки 31.07.2023

Опубликована 10.09.2023

## PHARMACO-EEG ANALYSIS OF THE EFFECT OF ACETYLCHOLIN AND INSULIN IN NANOPARTICLES ON THE HIPPOCAMPUS OF CATS

Yuriy V. Fokin\*, Sergey Yu. Kharitonov, Lidiya A. Taboyakova, 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

The central mechanisms of acetylcholine and insulin in nanoparticles via transpalatinal administration to cats were studied using a neuroimaging algorithm, including a software-supported pharmacology-EEG analysis of graphic functions of normalized electrograms. The studied substances were found to exhibit a predominantly depressing action, which begins in the first hours after administration. Liposomal forms of acetylcholine and insulin penetrate the blood-brain barrier and modulate the intracerebral relations of the brain, reflected in high-frequency rhythms (mainly  $\gamma$ -rhythms) of the hippocampal region of the brain and associated with the activity of intercalary neurons and pyramidal cells. The substances under study appear to be promising for the prevention and treatment of neuropathies caused, e.g., by geriatric dysfunctions of

the cholinergic and insulin signaling systems, as well as for improving memory consolidation and cognitive functions.

**Keywords:** neuroimaging, brain electrograms, pharmaco-EEG, normalized brain electrograms (NBE), fast Fourier transform (FFT), acetylcholine, insulin, liposomes, hippocampus, cats

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

**For citation:** Fokin Yu.V., Kharitonov S.Yu., Taboyakova L.A., Karkischenko N.N. Pharmaco-EEG Analysis of the Effect of Acetylcholin and Insulin in Nanoparticles on the Hippocampus of Cats. *Journal Biomed.* 2023;19(3):58–65. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-58-65>

Submitted 20.03.2023

Revised 31.07.2023

Published 10.09.2023

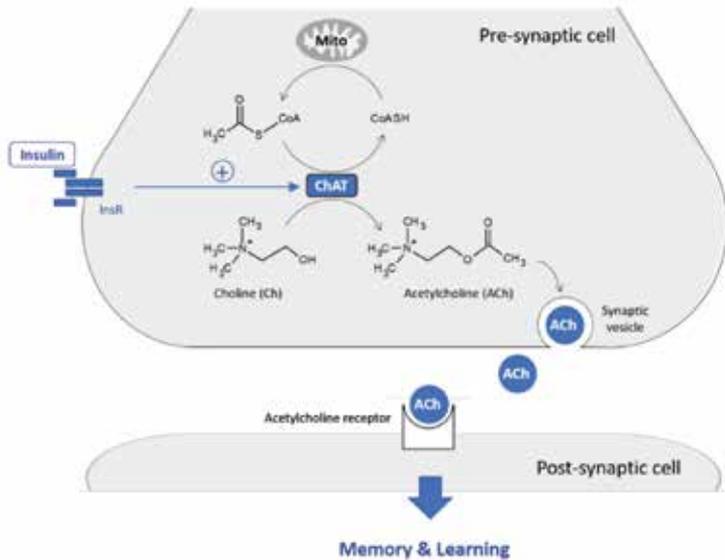
## Введение

В настоящее время в научной литературе содержится достаточно мало сведений о связи холинэргической системы и инсулиновой сигнальной системы в мозге, но имеющиеся данные указывают на их кооперативное взаимодействие [5–10].

В нейронах коры головного мозга человека обнаружена совместная локализация субстрата инсулинового рецептора 1 (IRS-1) InsR и ферментов холинэргической системы ChAT [9, 10]. Молекулярные компоненты сигнальной системы инсулина, такие как InsR, протеинкиназа В (PKB или Akt) и гликогенсинтазы киназа  $\beta$  (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 [10]. Сведения 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 [5, 7], культуре нейрональных клеток человека PNET2 [9], в нейронах сетчатки глаза [8], но снижал активность ChAT в нейронах стриатума [5]. Инсулин не влиял на активность AChE в гомогенатах мозга крыс

в физиологическом интервале концентраций, но повышал эту активность в концентрациях, превышающих физиологические [6]. Инсулин незначительно снижал мРНК AChE и не влиял на экспрессию белка AChE в культуре нейрональных клеток человека PNET2. У людей с болезнью Альцгеймера (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 [9]. 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).

В наших предыдущих исследованиях по данной тематике [1] было показано, что ацетилхолин и инсулин, применяемые в липосомированных формах, обладают однонаправленным действием, оказывают влияние на центральные механизмы высшей нервной деятельности и коррелируют посредством преобразования частотно-спектральных характеристик ультразвуковой локализации, параметров свободного поведения и когнитивных способностей лабораторных крыс. Тестируемые вещества проявляют признаки анксиолитиче-



**Рис. 1.** Влияние инсулина на синтез ацетилхолина и холинэргическую нейротрансмиссию. Инсулиновый рецептор (*InsR*) и холинацетилтрансфераза (*ChAT*) ко-экспрессируются в холинэргических нейронах [9, 10]. Инсулин стимулирует экспрессию *ChAT*, усиливая таким образом синтез ацетилхолина (*ACh*) из холина (*Ch*) в коре головного мозга [9]. *ACh* накапливается в синаптических везикулах, секретируется в синаптическую щель и связывается с ацетилхолиновыми рецепторами на пост-синаптической мембране, запуская холинэргическую 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 [9, 10]. Insulin stimulates *ChAT* expression, thus enhancing the synthesis of acetylcholine (*ACh*) from choline (*Ch*) in the cerebral cortex [9]. *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

ских средств с седативным компонентом. Курсовое недельное применение 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) гиппокампального отдела головного мозга, связанные с активностью вставочных нейронов и пирамидных клеток, модулирующих противотревожное, антидепрессивное, обезболивающее и прочие сходные действия исследуемых веществ, а также улучшение консолидации памяти и когнитивных функций.

Настоящая работа явилась продолжением исследований холинэргической и инсу-

линовой сигнальной систем и направлена на изучение центральных механизмов их действия.

**Цель работы** — нейровизуализация интрацентральных отношений головного мозга кошек при действии нейромедиатора ацетилхолина и гормона инсулина посредством алгоритма программного фармако-ЭЭГ-анализа графических функций нормированных электрограмм.

### Материалы и методы

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

**Вживление электродов** в головной мозг животных производилось стереотаксическим путём в виде разработанных электродных конструкций.

**Регистрация и анализ параметров электрограмм (ЭГМ)** с последующим нормированием (НЭМ-метод) осуществлялись с помощью разработанных в НЦБМТ ФМБА России инновационных технических средств и программного обеспечения (микромодуль) [2–4].

**Нейровизуализация параметров ЭГМ** — получаемые данные представлены на трёх графиках, нанесённых на круговую векторную диаграмму и отражающих средние значения:

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

На диаграмме отмечены:

- цифровое кодирование по периметру — частоты ЭГ (1–64 Гц);
- спектральные характеристики ЭГ (круговые сектора) — от 0 (внутренний сектор) до  $\lg 10n$  (внешний сектор);
- базисная линия нормирования принята за единицу. Расположение кривой НЭМ внутри (ближе к внутреннему сектору диаграммы) свидетельствует о снижении мощности частот ЭГ при воздействии по сравнению с фоновыми данными, расположение снаружи (ближе к внешнему сектору) — о повышении мощности частот ЭГ по сравнению с фоном.

На диаграммах указаны все частоты ЭГ анализируемого диапазона, и для удобства восприятия материала специалистами, привыкшими к традиционной форме интерпретации ЭГ, мы разграничили частоты согласно принятой классификации на дельта- ( $\delta$  — 1–4 Гц), тета- ( $\theta$  — 4–8 Гц), альфа- ( $\alpha$  — 8–12 Гц), сигма- ( $\sigma$  — 12–16 Гц), бета- ( $\beta$  — 16–30 Гц) и гамма- ( $\gamma$  — 30–64 Гц) диапазоны.

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

Для включения в липосомы готовили р-ры инсулина и ацетилхолина в предварительно подогретой до  $30 \pm 2$  °С деионизованной воде, затем постепенно, при постоянном медленном перемешивании, вносили 70% фосфатидилхолин с индексом окисленности не более 0,25 до его конечной концентрации 10%, диспергировали до образования гомогенной преддисперсии, постепенно увеличивая скорость оборотов до 20 тыс. об./мин. Полученные преддисперсии обрабатывали на гомогенизаторе высокого давления (от 10 до 40–80 Мпа), при температуре  $33 \pm 3$  °С, постоянно контролируя размер полученных частиц с помощью анализатора размера частиц методом лазерной дифракции света (638 нм). При достижении частицами среднего размера 100 нм гомогенизацию завершали, в дисперсию добавляли криопротектор в соотношении к фосфолипидам 1:2, лиофилизировали. В полученных конечных продуктах содержалось 100 мг (2860 МЕ) инсулина и 100 мг ацетилхолина соответственно.

**Оценка нейропсихоактивных средств** осуществлена с однократным транспалатинальным применением разработанных и синтезированных в НЦБМТ ФМБА России субстанций, обеспечивающих системное накопление в мозге ацетилхолина (АЦХ) и инсулина, в липосомированных формах, позволяющих веществам эффективнее всасываться в желудочно-кишечном тракте, сохраняя свою структуру и при этом практически не разрушаясь при первом прохождении через печень, в связи с чем используется меньшее количество действующего вещества при одной и той же биодоступности или увеличивается эффективная действующая концентрация. При попадании к органу-мишени содержимое липосом легко проникает внутрь клетки благодаря биологической совместимости липосомной оболочки с клеточными структурами.

Оба вещества вводились в средних терапевтических дозах с учётом межвидовых коэффициентов на кошек, составляющих для липосомированного АЦХ 15 мг/кг (по лиофилизату), для инсулина — 10 МЕ/организм.

### Результаты и их обсуждение

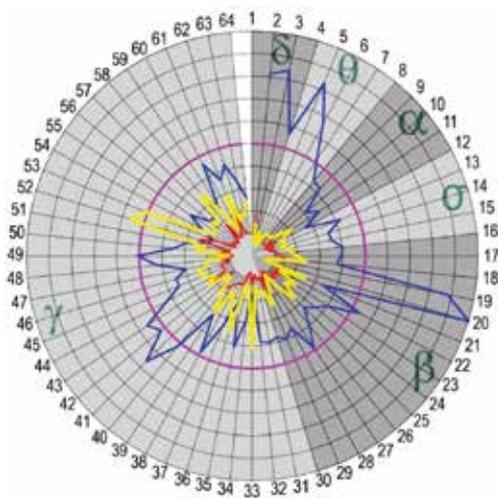
Через анализ нормированных функций электрограмм головного мозга осуществлена нейровизуализация эффектов АЦХ. Наиболее значимые результаты, отражающие интрацентральные механизмы, обнаружены в области дорзального гиппокампа (*hippocampus posterior*, НРр), они представлены в динамике по основным времен-

ным реперным точкам (пиковому действию и следовым эффектам).

НЭМ-анализ АЦХ липосомированного (рис. 2, 3) отражает его преимущественно депримирующее действие по всему анализируемому диапазону, наиболее выражено проявляющееся через 2 ч и до 6 ч после введения, которое свидетельствует о седативных свойствах данной субстанции.

Через 2 ч наиболее выраженные эпизоды депримации отмечаются в  $\theta$ -ритме (2–7 Гц) и высокочастотных  $\beta$ - и  $\gamma$ -ритмах (20, 27, 49 Гц). При этом на частоте около 52–53 Гц наблюдается близкий к фоновому уровень активности.

Через 6 ч наблюдаются скачкообразные изменения преимущественно депримирующего характера, наиболее выраженные проявляющиеся на высоких частотах около 32, 39, 64 Гц. При этом в областях 2–7, 11–15, 46, 51, 57–62 Гц отмечаются эпизоды активации, а в диапазонах 20–28, 34–37 Гц наблюдается близкий к фоновому уровень активности.

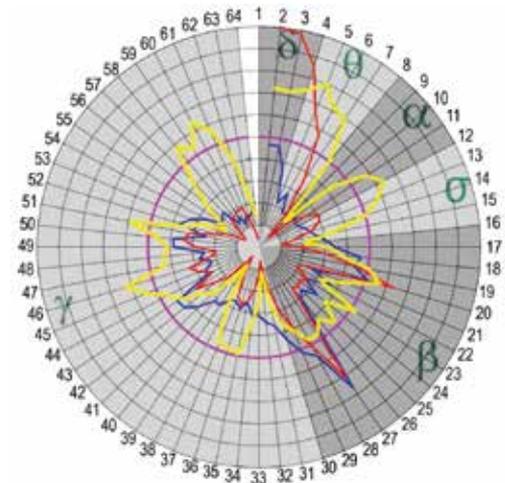


**Рис. 2.** Параметры ЭГМ и НЭМ через 2 ч после введения АЦХ липосомированного

**Примечание:** синяя кривая — фоновые измерения; красная кривая — воздействие; жёлтая кривая — НЭМ; розовый контур — базисная линия нормирования. Цифровое кодирование по периметру — частоты, Гц. Круговые сектора — спектральные характеристики ЭГМ.

**Fig. 2.** BE and NBE parameters 2 hours after the administration of Acetylcholine liposomal

**Note:** The blue curve is background measurements, the red curve is impact, the yellow curve is NBE. The pink contour is the basic line of valuation. Digital coding on the perimeter is the frequency, Hz. Circular sectors are the spectral characteristics of BE.



**Рис. 3.** Параметры ЭГМ и НЭМ через 6 ч после введения АЦХ липосомированного (все обозначения — как на рис. 2)

**Fig. 3.** BE and NBE parameters 6 hours after the administration of Acetylcholine liposomal (for all designations, refer to Fig. 2)

Преобладающие изменения в высокочастотном  $\gamma$ -диапазоне могут являться важнейшими показателями эффектов нейротропных средств.

НЭМ-анализ инсулина липосомированного (рис. 4, 5) также отражает его депримирующее действие по всему анализируемому диапазону, наиболее выражено проявляющееся через 1 ч и до 4 ч после введения, которое свидетельствует о седативных свойствах данной субстанции.

Через 1 ч обнаруживается максимальный уровень депримации на всём частотном диапазоне (приблизительно в 4,5 раза по сравнению с исходными значениями).

Через 4 ч наблюдается менее выраженное депримирующее действие вещества. Наибольшая спектральная плотность мощности обнаружена на частоте около 62 Гц, относящейся к  $\gamma$ -диапазону, что также может свидетельствовать о его важнейшей роли в эффектах нейротропных средств.

## Выводы

Посредством алгоритма программного фармако-ЭЭГ-анализа графических функций нормированных электрограмм установлены центральные механизмы действия нейромедиатора ацетилхолина и гормона инсулина в липосомированных формах. Методом нейровизуализации интрацентральных отношений головного мозга показано их преимущественно депримирующее действие, начинающееся на первых часах после трансплатинального введения. Восстановление параметров электрограмм мозга более отчётливо прослеживается при применении липосомированного ацетилхолина.

Подтверждено предположение о том, что липосомированные формы ацетилхолина и инсулина проникают через гематоэнцефалический барьер и модулируют интрацентральные отношения головного мозга, отражающиеся в высокочастотных ритмах

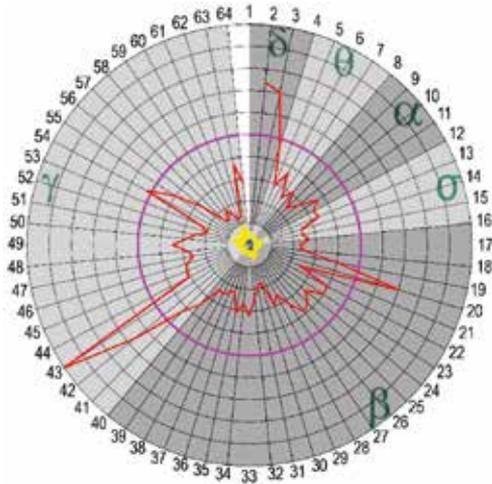


Рис. 4. Параметры ЭГМ и НЭМ через 1 ч после введения инсулина липосомированного (все обозначения — как на рис. 2)

Fig. 4. BE and NBE parameters 1 hour after the administration of insulin liposomal (for all designations, refer to Fig. 2)

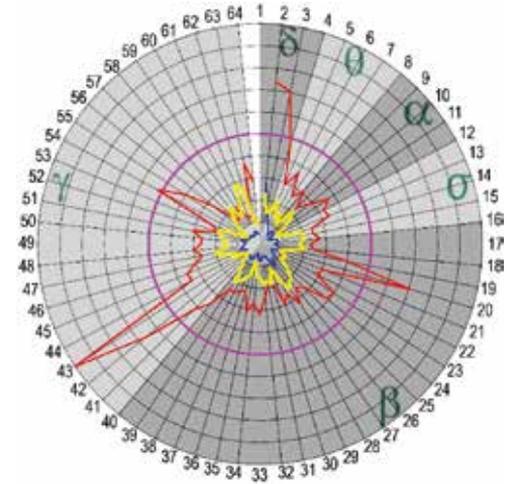


Рис. 5. Параметры ЭГМ и НЭМ через 4 ч после введения инсулина липосомированного (все обозначения — как на рис. 2)

Fig. 5. BE and NBE parameters 4 hours after the administration of insulin liposomal (for all designations, refer to Fig. 2)

(преимущественно  $\gamma$ -диапазона) гиппокампального отдела головного мозга и связанные с активностью вставочных нейронов и пирамидных клеток.

Обнаруженное действие исследуемых веществ определяет перспективность их при-

менения в качестве инновационных средств профилактики и лечения заболеваний ЦНС, вызванных в т. ч. гериатрической дисфункцией холинэргической и инсулиновой сигнальной систем, для улучшения консолидации памяти и когнитивных функций.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Люблинский С.Л., Помыткин И.А., Алимкина О.В., Таболякова 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. [Karkischenko V.N., Fokin Yu.V., Lyublinskiy S.L., Pomytkin I.A., Alimkina O.V., Taboyakova L.A., Kapctov A.V., Borisova M.M., Karkischenko N.N. Tsentral'nye mekhanizmy liposomirovannykh form atsetilkholina i insulina posredstvom analiza kognitivnykh, psikhoemotsional'nykh i povedencheskikh parametrov kryс [Central mechanisms of liposomated forms of acetylcholin and insulin by analysis of cognitive, psycho-emotional and behavioral parameters of rats]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2022;18(1):32-55. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-18-1-32-55.
2. Каркищенко Н.Н., Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н., Таболякова Л.А., Мокроусов М.И., Алимкина О.В. Конвергентная валидация интрацентральных отношений головного мозга животных. *Биомедицина*. 2017;3:16-39. [Karkischenko N.N., Fokin Yu.V., Karkischenko V.N., Taboyakova L.A., Mокроусов M.I., Alimkina O.V. Konvergentnaya validatsiya intratsentral'nykh otnosheniy golovnogo mozga zhyvotnykh [Convergent validation of intracentral relationships of the brain of animals]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2017;3:16-39. (In Russian)].
3. Каркищенко Н.Н., Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н., Таболякова Л.А., Харитонов С.Ю., Алимкина О.В. Новые подходы к оценке интрацентральных отношений по показателям оперантного поведения и электрограмм мозга кошек. *Биомедицина*. 2018;4:4-17. [Karkischenko N.N., Fokin Yu.V., Karkischenko V.N., Taboyakova L.A., Kharitonov S.Yu., Alimkina O.V. Novye podkhody k otsenke intratsentral'nykh otnosheniy po pokazatelyam operantnogo povedeniya i elektrogramm mozga koshek [New approaches to the assessment of intracentral relations in terms of operant behavior and electrograms of the cats brain]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2018;4:4-17. (In Russian)].
4. *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 zhyvotnym i al'ternativnym modelyam v biomeditsinskikh issledovaniyakh [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)].
5. 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. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1992.tb09387.x.
6. Catalán R., Martínez A., Mata F., Aragonés M. Effect of insulin on acetylcholinesterase activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1981;101(4):1216-1220. DOI: 10.1016/0006-291x(81)91577-1.
7. 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. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.10-02-00558.1990.
8. 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. DOI: 10.1006/bbrc.1997.6374.
9. 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.
10. 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. DOI: 10.1016/j.brainres.2008.10.046.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

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

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

**Харитонов Сергей Юрьевич**, ФГБУН «Науч-  
ный центр биомедицинских технологий ФМБА  
России»;  
[e-mail: zetroks5@gmail.com](mailto:zetroks5@gmail.com)

**Sergey Yu. Kharitonov**, Scientific Center of  
Biomedical Technologies of the Federal Medical and  
Biological Agency of Russia;  
[e-mail: zetroks5@gmail.com](mailto:zetroks5@gmail.com)

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

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

**Каркищенко Николай Николаевич**, д.м.н.,  
проф., acad. РАН, чл.-корр. РАН, ФГБУН  
«Научный центр биомедицинских технологий  
ФМБА России»;  
[e-mail: niknik2808@yandex.ru](mailto:niknik2808@yandex.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



## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ОБОСНОВАНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ НОВЫХ ФОРМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ И ФУНКЦИЙ

К.Т. Еримбетов<sup>1,\*</sup>, Р.А. Земляной<sup>1</sup>, А.В. Федорова<sup>2</sup>, О.В. Обвинцева<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ООО «Научно-исследовательский технологический центр «Профилактической информационной медицины» 249030, Российская Федерация, Калужская обл., Обнинск, Киевское ш., 3, стр. 2, оф. 8

<sup>2</sup> Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России 249036, Российская Федерация, Калужская обл., Обнинск, ул. Королева, 4

<sup>3</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ имени Л.К. Эрнста» 142132, Российская Федерация, Московская обл., Подольск, п. Дубровицы, 60

В наших исследованиях ставилась цель разработать и исследовать наноструктурные клатратные комплексы 20-гидроксиэйдистерона, производного роданина 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с различными клатратообразователями, в частности с такими как арабиногалактан, β-циклодекстрин. Впервые предложена экспериментальная модель обоснования их применения для коррекции физиологических процессов и функций как в норме, так и при нарушениях в животном организме. Заключение, что полученные результаты обосновывают возможность регуляции обменных процессов за счёт активирования сигнальных путей, связанных с клеточной пролиферацией.

**Ключевые слова:** производное роданина, 20-гидроксиэйдистерон, метаболизм, биологическая доступность, токсичность, гипергликемия

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

**Для цитирования:** Еримбетов К.Т., Земляной Р.А., Федорова А.В., Обвинцева О.В. Экспериментальная модель обоснования применения новых форм биологически активных веществ для коррекции физиологических процессов и функций. *Биомедицина*. 2023;19(3):66–70. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-66-70>

Поступила 22.04.2023

Принята после доработки 16.08.2023

Опубликована 10.09.2023

## EXPERIMENTAL MODEL TO SUBSTANTIATE THE APPLICATION OF NEW BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FOR CORRECTING PHYSIOLOGICAL PROCESSES AND FUNCTIONS

Kenes T. Erimbetov<sup>1,\*</sup>, Ruslan A. Zemlyanoy<sup>1</sup>, Alena V. Fedorova<sup>2</sup>, Olga V. Obvintseva<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Research Technological Center “Preventive Information Medicine” 249030, Russian Federation, Kaluga Region, Obninsk, Kievskoe Highway, 3, Building 2, Office 8

<sup>2</sup> *Medical Radiological Research Center named after A.F. Tsyb — Branch of the National Medical Research Center for Radiology of the Ministry of Health Care of Russia*  
249036, Russian Federation, Kaluga Region, Obninsk, Koroleva Str., 4

<sup>3</sup> *All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of Animals — Branch of the Federal Research Center for Animal Husbandry — All-Russian Institute of Animal Husbandry named after L.K. Ernst*  
142132, Russian Federation, Moscow Region, Podolsk, Dubrovitsy Village, 60

In this research, we aim to develop and investigate nanostructured clathrate complexes of 20-hydroxyecdysterone, a rhodanine derivative of 3-(2-phenylethyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one, with various clathrate formers, such as arabinogalactan and  $\beta$ -cyclodextrin. For the first time, an experimental model is proposed to justify their use for the correction of physiological processes and functions, both in normal and pathologic conditions in the animal body. The results obtained substantiate the possibility of regulating metabolic processes by activating signaling pathways associated with cell proliferation.

**Keywords:** rhodanine derivative, 20-hydroxyecdysterone, metabolism, bioavailability, toxicity, hyperglycemia

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

**For citation:** Erimbetov K.T., Zemlyanoy R.A., Fedorova A.V., Obvintseva O.V. Experimental Model to Substantiate the Application of New Biologically Active Substances for Correcting Physiological Processes and Functions. *Journal Biomed.* 2023;19(3):66–70. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-66-70>

Submitted 22.04.2023

Revised 16.08.2023

Published 10.09.2023

В последние годы большой интерес у исследователей вызывает изучение молекул, воздействующих на метаболические звенья и которые могут активировать сигнальные пути, связанные с пролиферацией, ростом и развитием [2, 6].

Современные представления о физиологических механизмах регуляции обмена веществ, роста и развития животных дают основания полагать, что ранний постнатальный период онтогенеза является наиболее благоприятным для коррекции метаболических процессов с целью полной реализации генетического потенциала их развития. Об этом свидетельствуют данные возрастного ослабления компонентов трансляции и факторов, необходимых для активации роста анаболических процессов. Такое снижение трансляционной способности в ответ на питание у новорождённых детёнышей происходит очень быстро. В частности, повышенная способность к синтезу мышечного белка у новорождённых обусловлена высоким содержанием рибосом и увеличением эффективности

процесса трансляции [3–5]. В связи с этим ключевым моментом является координация внутриклеточных процессов, осуществляемых с участием различных химических сигналов, которые отражают влияние факторов питания и гормонального статуса (например, инсулин/IGF-I), состояние энергетического обмена, физическую активность (например, АМР-киназа, фосфатидная кислота) и медиаторы стрессовых воздействий [1].

Разработка биологически активных веществ с улучшенными физико-химическими и биофармацевтическими свойствами, обеспечивающих возможность регуляции обменных процессов за счёт активирования сигнальных путей, связанных с клеточной пролиферацией, является актуальной задачей на современном этапе развития биомедицинской науки.

Предложенная экспериментальная модель предполагала проведение двух этапов исследования:

1. Получение наноструктурных клатратных комплексов предусматривало его синтез

и исследование свойств, разработку методики количественного определения их в плазме крови, оценку относительной биологической доступности на крысах и собаках.

2. Проведение серий экспериментов на животных (мышьях, крысах, кроликах) с целью регуляции физиологических процессов и функции: метаболизма, в т. ч. при его нарушениях (на экспериментальных моделях), повышения устойчивости, активности антиоксидантной защиты организма и оценки их токсичности.

В результате проведённых исследований впервые получен супрамолекулярный комплекс производного роданина с  $\beta$ -циклодекстрином при массовом соотношении 1:5, представляющий собой кристаллический мелкодисперсный порошок белого с жёлтым оттенком цвета со средним размером частиц 40,5 нм. По растворимости в воде и биологической доступности превышает в 5,0 и 6,08 раза соответственно аналогичное значение производного роданина.

Также был получен наноструктурный клатратный комплекс 20-гидроксиэкидистерона с арабиногалактаном с соотношением масс 1:10 в виде мелкодисперсного подвизного порошка белого с оттенком светло-жёлтого цвета со средним размером частиц 35,3 нм. Растворимость в водной среде наноструктурного клатратного комплекса 20-гидроксиэкидистерона с арабиногалактаном в соотношениях 1:5 и 1:10 составила, соответственно, 10,0 и 10,5 г/л, а растворимость в воде самого 20-гидроксиэкидистерона — 6,7 г/л. По уровню биологической доступности наноструктурный клатратный комплекс 20-гидроксиэкидистерона с арабиногалактаном с соотношением масс 1:10 превышает 1,91 раза аналогичное значение исходного соединения.

Ингибирующее действие супрамолекулярного комплекса производного роданина с  $\beta$ -циклодекстрином в отношении киназы гликогенсинтазы 3 $\beta$  как сигнальной молекулы сопровождалось активированием про-

цессов обмена белков, углеводов и липидов в организме.

Супрамолекулярный комплекс производного роданина с  $\beta$ -циклодекстрином обеспечивает усиление неспецифической резистентности и первой линии системы антиоксидантной защиты организма кроликов, при этом не влияет на процессы перекисного окисления липидов. При экспериментальной гипергликемии на крысах и кроликах проявляет гипогликемическую активность и нормализацию обмена веществ.

Впервые показана физиологическая значимость и безопасность применения супрамолекулярного комплекса производного роданина с  $\beta$ -циклодекстрином, что подтверждается отсутствием мутагенных свойств в тесте хромосомных нарушений в клетках костного мозга самцов и самок мышьях, влияния на внешний вид и поведение животных, повреждающего действия в отношении внутренних органов и систем организма и принадлежностью к VI классу относительно безвредных веществ по Hodge и к 5-му классу токсичности в соответствии с ГОСТ 32644-2014.

Участие наноструктурного клатратного комплекса 20-гидроксиэкидистерона с арабиногалактаном в РЗК-пути активации серин-треониновой протеинкиназы В сопровождалось повышением активности белоксинтезирующей, креатинкиназной, лактатдегидрогеназной систем, развитием скелетно-мышечной ткани, увеличением ретенции азота за счёт уменьшения его эндогенных потерь, показателей роста и развития животных, улучшением липидного профиля организма в постнатальный период развития. Также было показано, что наноструктурный клатратный комплекс 20-гидроксиэкидистерона с арабиногалактаном обеспечивает защиту от оксидативного и нитрозативного стресса за счёт повышения активности ферментов антиоксидантной системы, естественной резистентности и снижения процессов перекисного

окисления липидов в организме животных. Наноструктурный клатратный комплекс 20-гидроксизидистерона с арабиногалактаном на животных (крысы и кролики) обеспечивает физиологическую возможность утилизировать глюкозу и коррекцию

обменных процессов после гипергликемии. Обоснованием для практического применения наноструктурного клатратного комплекса 20-гидроксизидистерона с арабиногалактаном является его физиологическая безопасность.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Еримбетов К.Т., Обвинцева О.В., Соловьева А.Г., Федорова А.В., Земляной Р.А. Сигнальные пути и факторы регуляции синтеза и распада белков в скелетных мышцах (обзор). *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2020;1:24–33. [Erimbetov K.T., Obvintseva O.V., Solovieva A.G., Fedorova A.V., Zemlyanoy R.A. Signal'nye puti i faktory regulyatsii sinteza i raspada belkov v skeletnykh myshtsakh (obzor) [Signaling pathways and factors regulating the synthesis and breakdown of proteins in skeletal muscles (review)]. *Problemy biologii produktivnykh zhyvotnykh [Problems of productive animals biology]*. 2020;1:24–33. (In Russian)]. DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2020.1.24-33.
2. Anthony T.G. Mechanisms of protein balance in skeletal muscle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2016;56(Suppl.): 23–32. DOI: 10.1016/j.domaniend.2016.02.012.
3. Davis T.A., Fiorotto M.L., Suryawan A. Bolus vs. continuous feeding to optimize anabolism in neonates. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metabol. Care.* 2015;18(1):102–108. DOI: 10.1097/MCO.000000000000128.
4. Davis T.A., Suryawan A., Orellana R.A., Fiorotto M.L., Burrin D.G. Amino acids and insulin are regulators of muscle protein synthesis in neonatal pigs. *Animal.* 2010;4(11):1790–1796. DOI: 10.1017/S1751731110000984.
5. Davis T.A., Suryawan A., Orellana R.A., Nguyen H.V., Fiorotto M.L. Postnatal ontogeny of skeletal muscle protein synthesis in pigs. *J. Anim. Sci.* 2008;86(14 Suppl.):13–18. DOI: 10.2527/jas.2007-0419.
6. Montenegro M.C., Peraza P., Balemian N., Carballo C., Barlocco N., Barrios P.G., Mermies B., Saadoun A., Castro G., Guimarães S.F., Llambí S. Gene expression analysis by RNA-sequencing of Longissimus dorsi muscle of pigs fed diets with differing lipid contents. *Genet. Mol. Res.* 2019;18(4):gmr183097. DOI: 10.4238/gmr18307.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Еримбетов Кенес Тагаевич\***, д.б.н., ООО «Научно-исследовательский технологический центр «Превентивной информационной медицины»;

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

**Земляной Руслан Александрович**, ООО «Научно-исследовательский технологический центр «Превентивной информационной медицины»;

**e-mail: [ruslan47zemljanoi@gmail.com](mailto:ruslan47zemljanoi@gmail.com)**

**Федорова Алена Владимировна**, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России;

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

**Kenes T. Erimbetov\***, Dr. Sci. (Biol.), Research Technological Center “Preventive Information Medicine”;

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

**Ruslan A. Zemlyanoy**, Research Technological Center “Preventive Information Medicine”;

**e-mail: [ruslan47zemljanoi@gmail.com](mailto:ruslan47zemljanoi@gmail.com)**

**Alena V. Fedorova**, Medical Radiological Research Center named after A.F. Tsyb — Branch of the “National Medical Research Center for Radiology” of the Ministry of Health Care of Russia;

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

**Обвинцева Ольга Витальевна**, к.б.н., Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ имени Л.К. Эрнста»;  
[e-mail: obvintseva.olga@yandex.ru](mailto:obvintseva.olga@yandex.ru)

**Olga V. Obvintseva**, Cand. Sci. (Biol.), All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of Animals — Branch of the Federal Research Center for Animal Husbandry — All-Russian Institute of Animal Husbandry named after L.K. Ernst;  
[e-mail: obvintseva.olga@yandex.ru](mailto:obvintseva.olga@yandex.ru)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## ВЛИЯНИЕ ВОДЫ, ОБОГАЩЁННОЙ МОЛЕКУЛЯРНЫМ ВОДОРОДОМ, НА НАДПОЧЕЧНИКИ МАЛОЙ ДЛИННОХВОСТОЙ ШИНШИЛЛЫ

Д.В. Петров<sup>1,\*</sup>, А.А. Иванов<sup>2</sup>, Е.В. Панина<sup>2</sup>, Н.В. Петрова<sup>1</sup>, А.Е. Сорочан<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет —  
МСХА имени К.А. Тимирязева»  
127434, Российская Федерация, Москва, ул. Тимирязевская, 49

Введение воды, обогащённой молекулярным водородом, в рацион малой длиннохвостой шиншиллы при клеточном разведении оказало влияние на изменение морфометрических показателей надпочечников животных: надпочечники опытной группы были более компактные, их абсолютная и относительная масса была меньше, чем у интактных животных. Толщина коркового вещества надпочечников в опытной группе достоверно уменьшалась за счёт всех слоёв, включая пучковый, продуцирующий глюкокортикоиды. Применение водородного антиоксиданта в течение длительного периода способствовало снижению воздействия стресса при клеточном содержании и благоприятно отразилось на интерьерных показателях.

**Ключевые слова:** стресс, *Chinchilla lanigera*, водородный антиоксидант, надпочечники

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

**Для цитирования:** Петров Д.В., Иванов А.А., Панина Е.В., Петрова Н.В., Сорочан А.Е. Влияние воды, обогащённой молекулярным водородом, на надпочечники малой длиннохвостой шиншиллы. *Биомедицина*. 2023;19(3):71–76. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-71-76>

Поступила 15.04.2023

Принята после доработки 10.07.2023

Опубликована 10.09.2023

## INFLUENCE OF HYDROGEN WATER ON THE ADRENAL GLANDS OF *CHINCILLA LANIGERA*

Dmitry V. Petrov<sup>1,\*</sup>, Alexey A. Ivanov<sup>2</sup>, Elena V. Panina<sup>2</sup>,  
Natalia V. Petrova<sup>1</sup>, Anastasia E. Sorochan<sup>2</sup>

<sup>1</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

<sup>2</sup> Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy  
127434, Russian Federation, Moscow, Timiryazevskaya Str., 49

The introduction of hydrogen water into the diet of cage-bred *Chinchilla lanigera* (long-tailed chinchilla) was found to affect the morphometric parameters of their adrenal glands. Thus, the adrenal glands of the experimental group were more compact, with their absolute and relative mass being less than that in intact animals. The thickness of the adrenal cortex in the experimental group significantly decreased due to all layers, including the fascicular layer, producing glucocorticoids. The prolonged use of the hydrogen anti-oxidant reduced the impact of stress in cage-bred animals and had a positive effect on their life indicators.

**Keywords:** stress, *Chinchilla lanigera*, hydrogen antioxidant, adrenal glands

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

**For citation:** Petrov D.V., Ivanov A.A., Panina E.V., Petrova N.V., Sorochan A.E. Influence of Hydrogen Water on the Adrenal Glands of *Chinchilla lanigera*. *Journal Biomed.* 2023;19(3):71–76. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-71-76>

Submitted 15.04.2023

Revised 10.07.2023

Published 10.09.2023

## Введение

В процессе разведения, содержания и транспортировки лабораторных животных одной из важных проблем является появление стресса, приводящего к снижению адаптационных возможностей организма и возникновению заболеваний различной этиологии.

Для преодоления негативных последствий стресса становится актуальным применение веществ, обладающих антиоксидантной активностью, которые позволяют не только повысить адаптационные возможности, но и скорректировать поведение животных, тем самым снижая вероятность проявления стереотипных форм и агрессии [4, 8].

К таким биологически активным веществам относят и молекулярный водород, преимуществом которого является небольшая молекулярная масса. Не нарушая физиологические процессы организма, молекулярный водород легко диффундирует в клетки, не повреждая их основные жизненно важные элементы, и купирует избыточную свободнорадикальную активность [3, 7]. Многочисленные исследования показали, что молекулярный водород не только снижает количество свободных радикалов, вызывающих окислительный стресс, но и действует как противовоспалительное и противоаллергическое средство, а также стимулирует процессы энергетического обмена и способствует активации регенерации клеток после оперативного вмешательства, в т. ч. и кардиохирургии [1].

Во многих странах применение молекулярного водорода в лечебных и профилактических целях официально не разре-

шено в связи с тем, что мало исследованы механизмы цитопротективного действия водородного антиоксиданта, недостаточно клинических исследований и отсутствуют длительные токсикологические эксперименты [5]. Лишь в Японии молекулярный водород лицензирован как пищевая добавка и используется как безопасный питьевой продукт.

Известно, что надпочечники являются важным звеном эндокринной системы, отвечающей за поддержание гомеостаза и способствующей адаптации организма к различным изменениям окружающей среды.

При воздействии стресса на организм животного в надпочечниках происходит увеличение паренхимы коркового вещества и усиливается наполнение сосудов кровью.

На фоне внешних положительных эффектов от введения антиоксидантов в рацион лабораторных животных при клеточном содержании и недостатка информации по действию водородного антиоксиданта на эндокринную систему, **целью** нашей работы стало изучение влияния воды, обогащённой молекулярным водородом, на гистологическую структуру надпочечников малой длиннохвостой шиншиллы в возрастном аспекте.

## Материалы и методы

Для проведения эксперимента были отобраны десять самцов *Chinchilla lanigera* двухмесячного возраста со средней живой массой 270 г. Животные содержались в отдельных клетках при световом режиме 12/12, температуре помещения 20–22 °С

и влажности 40–50%. Кормление производилось гранулированным полнорационным комбикормом для шиншилл со свободным доступом к корму и воде. Поение в обеих группах осуществлялось автоматизированной системой, к которой в опытной группе был подключён аппарат для генерации молекулярного водорода Lourdes HS-81 («GrünePerlen GmbH», Германия). Содержание и обращение с животными в научном эксперименте соответствовали требованиям международных правил надлежащей лабораторной практики, Федерального закона «О защите животных от жестокого обращения» от 01.09.1997 г. [6]. Протокол эксперимента был одобрен биоэтической комиссией ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

В возрасте 36 мес. трёх средних по массе шиншилл из группы подвергали эктаназии, извлекали надпочечники, взвешивали их и готовили гистологические препараты по стандартным методикам (фиксацией в 10%-ном р-ре формалина, заливкой в парафин, изготовлением срезов толщиной 10–15 мкм при помощи микротомы, окраской гематоксилином и эозином). Готовые препараты микроскопировались, измерялась толщина коркового и мозгового вещества. Полученные данные обрабатывались статистически.

## Результаты и их обсуждение

При постановке на эксперимент абсолютная масса надпочечников животных в возрасте 2 мес. составила 110 мг; относительная масса — 0,03%. В возрасте 3 лет у самцов интактной группы масса надпочечников составляла 290 мг; относительная масса — 0,06%. В опытной группе этот показатель составил 156 мг; относительная масса — 0,03%, по отношению к средней живой массе в группе.

В возрасте 2 мес. толщина коркового слоя надпочечников составила 552 мкм (в т. ч. клубочковой зоны — 30 мкм, пуч-

ковой — 414 мкм, сетчатой — 107 мкм), мозгового — 318 мкм. Включение в рацион малой длиннохвостой шиншиллы водородного антиоксиданта способствовало изменению гистологической структуры коры надпочечников особой опытной группы. Все показатели линейных промеров отдельных зон и коркового вещества в целом в опытной группе достоверно ( $p < 0,001$ ) отличались от контрольной. Особенно это касается пучковой зоны, где вырабатываются гормоны, отвечающие не только за углеводный обмен, но и приспособливающие организм к неблагоприятным воздействиям окружающей среды, к числу которых относится и стресс. Так, общая толщина коркового вещества в контрольной группе составила 1022 мкм, что на 33% больше, чем в опытной группе (табл.).

Ширина клубочковой зоны в контрольной группе составила 79 мкм, а в опытной — на 48% меньше (табл.). Толщина пучковой зоны шиншилл контрольной группы составила 849 мкм, что на 31% больше, чем в опытной. Сетчатая зона коркового вещества надпочечников животных контрольной группы превосходила такую в опытной группе на 38%.

Толщина мозгового слоя в обеих группах различалась незначительно.

Предполагаем, что животные опытной группы лучше преодолевали стресс в отличие от особой контрольной группы, у которой кора надпочечников гипертрофировалась, в т. ч. и за счёт пучковой зоны.

Кроме того, в контрольной группе у одного самца в пучковой зоне коры было обнаружено большое количество крупных клеток с липидными включениями: это говорит о том, что животным контрольной группы необходимо накапливать больше липидов для выработки предшественников (холестерина) и самих стероидных гормонов для преодоления стрессовой нагрузки.

В работах ряда отечественных авторов, исследовавших этот аспект, отмечались

**Table.** Histological parameters of the adrenal cortex *Chinchilla lanigera*,  $M \pm m$ ,  $\mu\text{m}$ 

Толщина	Возраст		
	2 мес.	36 мес.	
		контрольная группа	опытная группа
клубочковой зоны	30 $\pm$ 1,6	79 $\pm$ 4,0	41 $\pm$ 1,3*
пучковой зоны	414 $\pm$ 21,8	849 $\pm$ 26,2	587 $\pm$ 14,0*
сетчатой зоны	107 $\pm$ 23,5	94 $\pm$ 6,2	58 $\pm$ 3,6*
коры в целом	552 $\pm$ 9,5	1022 $\pm$ 31,3	686 $\pm$ 15,0*
мозгового слоя	318 $\pm$ 47,3	503 $\pm$ 103,2	517 $\pm$ 124,6

**Примечание:** \* — разница между группами достоверна при  $p < 0,001$ .

**Note:** \* — the difference between the groups is significant at  $p < 0,001$ .

подобные изменения, сопровождавшие-ся дистрофией и нарушением клеточной архитектоники. Включение препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами, снижало деструкцию зон коры надпочечников и сохраняло их функциональность [2].

Перед началом эксперимента относительные размеры слоёв коркового вещества надпочечников шиншиллы были следующие: клубочковый слой составил 6%, пучковый — 75%, сетчатый — 19%. В возрасте 36 мес. в контрольной группе клубочковый слой составил 8%, пучковый — 83%, сетчатый — 9%; в опытной — 6%, 86% и 8% соответственно.

## Выводы

В результате проведённого анализа было выявлено, что надпочечники шиншиллы опытной группы были более компактные, их абсолютная и относительная масса на 50% меньше, чем у животных интактной группы. Толщина коркового вещества надпочечников в опытной группе достоверно ( $p < 0,001$ ) меньше, в т. ч. и за счёт всех слоёв, включая пучковый, где вырабатываются «антистрессовые» гормоны. Таким образом, введение в рацион малой длиннохвостой шиншиллы воды, обогащённой молекулярным водородом, в течение длительного периода (36 мес.) позволило существенно снизить воздействие стресс-факторов при клеточном содержании и помочь шиншиллам легче преодолеть их последствия.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Данилова Д.А., Бричкин Ю.Д., Медведев А.П., Пичугин В.В., Федоров С.А., Таранов Е.В., Назаров Е.И., Рязанов М.В., Большухин Г.В., Дерюгина А.В. Использование молекулярного водорода при операциях на сердце в условиях искусственного кровообращения. *Современные технологии в медицине*. 2021;13(1):71–77. [Danilova D.A., Brichkin Yu.D., Medvedev A.P., Pichugin V.V., Fedorov S.A., Taranov E.V., Nazarov E.I., Ryazanov M.V., Bolshukhin G.V., Deryugina A.V. Ispol'zovanie molekulyarnogo vodoroda pri operatsiyakh na serdtse v usloviyakh iskusstvennogo krovoobrashcheniya [Application of molecular hydrogen in heart surgery under cardiopulmonary bypass]. *Sovremennyye tekhnologii v meditsine [Modern technologies in medicine]*. 2021;13(1):71–77. (In Russian)]. DOI: 10.17691/stm2021.13.1.09.
2. Иванова И.К., Шантанова Л.Н., Бальхаев И.М. Влияние фитоадаптогена «Полифитотон» на структуру надпочечников белых крыс при иммобилизационном стрессе. *Acta biomedica scientifica*. 2011;1(77(2)):142–144. [Ivanova I.K., Shantano-va L.N., Bal'khayev I.M. Vliyanie fitoadaptogena «Polifitoton» na strukturu nadpochechnikov belykh krys pri immobilizatsionnom strese [Influence of the phytoadaptogen «Polyphytoton» on the structure of the adrenal glands of white rats under immobilization stress]. *Acta biomedica scientifica*. 2011;1(77(2)):142–144. (In Russian)].
3. Лапин А.А., Каратаев О.Р., Гарифуллин И.Г., Литвинов С.Д., Зеленков В.Н. Перспективы ис-

- пользования молекулярного водорода в экологичной и спортивной медицине (обзор литературы). *Вестник медицинского института «РЕАВИЗ». Реабилитация, Врачи и Здоровье*. 2021;11(6):33–41. [Lapin A.A., Karatayev O.R., Garifullin I.G., Litvinov S.D., Zelenkov V.N. Perspektivy ispol'zovaniya molekulyarnogo vodoroda v ekologichnoy i sportivnoy meditsine (obzor literatury) [Prospects for using molecular hydrogen in environmental and sport medicine (literature review)]. *Vestnik meditsinskogo instituta "REAVIZ". Reabilitatsiya, Vrach i Zdorov'e* [Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ" (Rehabilitation, Doctor and Health)]. 2021;11(6):33–41. (In Russian)]. DOI: 10.20340/vmi-rvz.2021.6.PHYS.2.
4. Петров Д.В., Иванов А.А., Панина Е.В., Пантелеев С.В. Влияние воды, обогащённой молекулярным водородом, на поведение самцов *Chinchilla lanigera*. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2021;9(111):176–181. [Petrov D.V., Ivanov A.A., Panina Ye.V., Panteleyev S.V. Vliyanie vody, obogashchennoy molekulyarnym vodorodom, na povedenie samtsov *Chinchilla lanigera* [Effect of water enriched with molecular hydrogen on the behavior of *Chinchilla lanigera* males]. *Mezhdunarodny nauchno-issledovatel'skiy zhurnal [International Research Journal]*. 2021;9(111):176–181. (In Russian)]. DOI: 10.23670/IRJ.2021.9.111.029.
5. Рахманин Ю.А., Егорова Н.А., Михайлова Р.И., Рыжова И.Н., Каменецкая Д.Б., Кочеткова М.Г. Молекулярный водород: биологическое действие, возможности применения в здравоохранении (обзор). *Hygiene & Sanitation*. 2019;98(4):359–365. [Rakhmanin Yu.A., Yegorova N.A., Mikhaylova R.I., Ryzhova I.N., Kamenetskaya D.B., Kochetkova M.G. Molekulyarnyy vodorod: biologicheskoe deystvie, vozmozhnosti primeneniya v zdravookhraneni (obzor) [Molecular hydrogen: Biological effects, potential healthcare applications (review)]. *Hygiene & Sanitation*. 2019;98(4):359–365. (In Russian)]. DOI: 10.47470/0016-9900-2019-98-4-359-365.
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 zhitvotnym i al'ternativnym modelyam v biomeditsinskih issledovaniyakh [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. Lili F., Huayu Ch., Junhui L., Da Ch., Yuexiang H. Controllable synthesis of hydrogen bubbles via aeration method for efficient antioxidant process. *Applied Nanoscience*. 2021;11:833–840. DOI: 10.1007/s13204-020-01652-z.
8. Panina E.V., Ivanov A.A., Petrov D.V., Panteleev S.V. Behavior of *Chinchilla lanigera* under cage keeping with the introduction of molecular hydrogen into the diet. *E3S Web of Conferences*. 2021;254:08008. DOI: 10.1051/e3sconf/202125408008.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Петров Дмитрий Валерьевич\***, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

**e-mail:** [1941-65@mail.ru](mailto:1941-65@mail.ru)

**Иванов Алексей Алексеевич**, д.б.н., проф., ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К.А. Тимирязева»;

**e-mail:** [aivanov@rgau-msha.ru](mailto:aivanov@rgau-msha.ru)

**Панина Елена Витальевна**, к.б.н., доц., ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К.А. Тимирязева»;

**e-mail:** [epanina@rgau-msha.ru](mailto:epanina@rgau-msha.ru)

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

**e-mail:** [1941-65@mail.ru](mailto:1941-65@mail.ru)

**Alexey A. Ivanov**, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy;

**e-mail:** [aivanov@rgau-msha.ru](mailto:aivanov@rgau-msha.ru)

**Elena V. Panina**, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy;

**e-mail:** [epanina@rgau-msha.ru](mailto:epanina@rgau-msha.ru)

**Петрова Наталья Владимировна**, ФГБУН  
«Научный центр биомедицинских технологий  
ФМБА России»;

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

**Natalia 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)**

**Сорочан Анастасия Евгеньевна**, ФГБОУ ВО  
«Российский государственный аграрный уни-  
верситет — МСХА имени К.А. Тимирязева»;

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

**Anastasia E. Sorochan**, Russian State Agrarian  
University — Moscow Timiryazev Agricultural  
Academy;

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

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-77-81>



## НАРУШЕНИЯ НЕЙРОМЫШЕЧНОЙ ПЕРЕДАЧИ У ЛЕПТИНРЕЗИСТЕНТНЫХ МЫШЕЙ

В.А. Приходько\*, Т.М. Матузок, С.В. Оковитый

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России  
197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. профессора Попова, 14, лит. А

ФГБУН Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН  
197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12, лит. А

Целью работы стало изучение и описание основных параметров нейромышечной передачи у молодых взрослых лептинрезистентных мышей линии C57Bl/Ks-db<sup>+/m</sup> (db/db). Исследование проведено на 10 мышах-самцах db/db и 10 мышах-самцах дикого типа возрастом 4 мес. методом стимуляционной электронейромиографии с оценкой параметров М-ответов *m. gastrocnemius* и *m. biceps brachii*. В группе мышей db/db обнаружено снижение максимальных амплитуд, увеличение латентности и длительности М-ответов, указывающие на наличие сочетанного аксонально-демиелинизирующего поражения периферических нервов.

**Ключевые слова:** мыши db/db, лептинрезистентность, нейромышечная передача, нейропатии, электронейромиография

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

**Для цитирования:** Приходько В.А., Матузок Т.М., Оковитый С.В. Нарушения нейромышечной передачи у лептинрезистентных мышей. *Биомедицина*. 2023;19(3):77–81. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-77-81>

Поступила 20.03.2023

Принята после доработки 22.07.2023

Опубликована 10.09.2023

## NEUROMUSCULAR JOINT FUNCTION IMPAIRMENT IN LEPTIN-RESISTANT MICE

Veronika A. Prikhodko\*, Tatyana M. Matuzok, Sergey V. Okovityi

Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia  
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Professor Popov Str., 14A

N.P. Bechtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences  
197376, Russian Federation, Saint Petersburg, Akad. Pavlova Str., 12A

The study was aimed at exploring and describing the main parameters of neuromuscular joint function in young adult leptin-resistant C57Bl/Ks-db<sup>+/m</sup> (db/db) mice. The experiment was carried out on 10 4-month-old male db/db mice and 10 male wild-type control mice, using stimulation electroneuromyography to assess M-wave parameters for *m. gastrocnemius* and *m. biceps brachii*. We discovered a decrease in maximal amplitudes along with an increase in the M-wave latency and duration, indicating the presence of combined axonal and demyelinating peripheral nerve injury.

**Keywords:** db/db mice, leptin resistance, neuromuscular joint function, neuropathies, electroneuromyography  
**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**For citation:** Prikhodko V.A., Matuzok T.M., Okovityi S.V. Neuromuscular Joint Function Impairment in Leptin-Resistant Mice. *Journal Biomed.* 2023;19(3):77–81. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-77-81>

Submitted 20.03.2023

Revised 22.07.2023

Published 10.09.2023

## Введение

Мыши линии C57Bl/Ks-db<sup>+/+</sup>m (LepRdb/db; db/db) имеют мутацию в гене рецептора лептина (*LepR*, *ObR*) на 4-й хромосоме с аутосомно-рецессивным типом наследования. Лептин — пептидный гормон, секретируемый адипоцитами и энтероцитами, одной из основных функций которого является регуляция энергетического обмена.

Фенотип мышей линии db/db характеризуется наличием гиперфагии, прогрессирующим ожирением и развитием сахарного диабета II типа (СДII), гипергликемией с 8 нед., гиперинулинемией, нарушением толерантности к глюкозе, гипертриглицеридемией, гиперхолестеринемией и развитием органичных поражений с 12–13 нед. жизни. Кроме того, отмечаются развитие стеатоза печени после 20 нед. жизни, стерильность и нарушение работы гипоталамо-гипофизарно-адренальной оси и щитовидной железы [6].

В ряде статей сообщается о развитии у мышей данной линии патологии скелетных мышц, включая атрофию мышечных волокон, нарушения аксональной возбудимости, снижения сократительной функции [1], замедления регенеративных процессов при повреждениях [3]. Тем не менее, данные об особенностях состояния мышечной системы и её функции у мышей db/db остаются неполными. В связи с этим **целью исследования** стало изучение состояния нейромышечной передачи у молодых взрослых мышей линии db/db.

## Материалы и методы

Исследование проводили в соответствии с принципами Базельской декларации

и Правилами надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств после одобрения биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. Эксперименты были выполнены на 10 молодых взрослых (4 мес.) мышцах-самцах линии C57Bl/6J массой 18–20 г (группа wild type, WT) и 10 молодых взрослых (4 мес.) мышцах-самцах линии C57Bl/Ks-db<sup>+/+</sup>m (группа db/db) массой 45–50 г, полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская обл.) одной партией и прошедших карантин в течение 14 сут. Мыши содержались в стандартных условиях вивария, получали «Полнорационный комбикорм для лабораторных животных» (ООО «Лабораторкорм», Россия) и воду, соответствующую требованиям ГОСТ 2874-82 «Вода питьевая». Доступ к корму и воде был обеспечен *ad libitum*.

Исследование нейромышечной передачи и биоэлектрической активности скелетных мышц проводили методом стимуляционной электронейромиографии (ЭНМГ) с помощью 8-канального электронейромиографа Нейро-МВП-8 и программы Нейро-МВП.NET<sup>®</sup> 3.7.3.7 (ООО «Нейрософт», Россия). Перед проведением исследования животных наркотизировали хлоралгидратом («Millipore Sigma», США; 400 мг/кг, внутривенно). Регистрировали моторные ответы (М-ответы) икроножной мышцы *m. gastrocnemius* на стимуляцию седалищного нерва *n. ischiadicus* слева и двуглавой мышцы плеча *m. biceps brachii* на стимуляцию мышечно-кожного нерва *n. musculocutaneus* справа [4].

Стимуляцию нервных волокон осуществляли при прямоугольной форме стимула и длительности 0,1 мс в диапазоне сил тока от 1 до 10 мА с последовательным увеличением с шагом 1 мА до достижения супрамаксимальной величины. Для минимизации случайной погрешности для каждого животного проводили три повторные регистрации М-ответов с повторной установкой всех электродов. Измеряли средние значения максимальных амплитуд М-ответа (мВ); латентности М-ответа с максимальной амплитудой (максимального М-ответа) (мс); сил тока, вызывавших М-ответы с минимальной (пороговая сила тока) и максимальной амплитудами (мА); длительности (мс) и площади (мВ×мс) максимального М-ответа [4].

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программно-

го обеспечения Prism 9.0.0 («GraphPad Software», США). Нормальность распределения количественных признаков проверяли с помощью W-критерия Шапиро — Уилка. При нормальном распределении количественных признаков значимость различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента, при ненормальном распределении — с помощью U-критерия Манна — Уитни. Порог статистической значимости устанавливали на уровне  $p < 0,05$ . Числовые данные на графиках представлены в виде средних арифметических; планки погрешностей отражают стандартные ошибки средних.

### Результаты исследований

В группе мышей db/db наблюдалось статистически значимое снижение максимальной амплитуды ( $-31,0\%$ ;  $p < 0,01$ ),

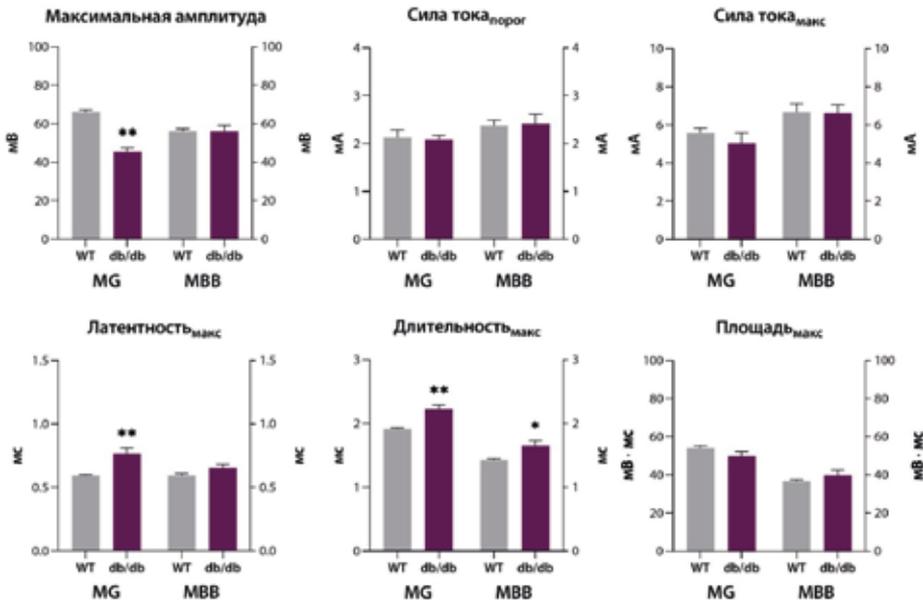


Рис. Основные параметры М-ответов мышц на электростимуляцию

Примечания: WT — дикый тип; MG — *m. gastrocnemius*; MBB — *m. biceps brachii*; порог — пороговое значение; макс — значение для М-ответа с максимальной амплитудой; \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ .

Fig. Main parameters of M-waves induced by electrical nerve stimulation

Notes: WT — wild type; MG — *m. gastrocnemius*; MBB — *m. biceps brachii*; порог — threshold; макс — maximal-amplitude M-wave; \* —  $p < 0.05$ ; \*\* —  $p < 0.01$ .

увеличение латентности (+28,5%;  $p < 0,01$ ) и длительности (+16,3%;  $p < 0,01$ ) М-ответа *m. gastrocnemius*, а также увеличение длительности (+16,1%;  $p < 0,05$ ) М-ответа *m. biceps brachii*. Изменения остальных регистрируемых параметров не имели статистической значимости (рис.).

### Обсуждение результатов

Уменьшение амплитуды М-ответа может свидетельствовать о сокращении числа функционально активных моторных единиц, а также уменьшении их размеров. Сниженные максимальные амплитуды М-ответа обычно обнаруживаются при утрате аксонов, например, при нейропатии по аксональному типу. При аксональной полинейропатии характерным является более раннее поражение нижних конечностей по сравнению с верхними вследствие большей длины аксонов, что может объяснять наличие изменений М-ответов *m. gastrocnemius*, но не *m. biceps brachii* [5]. Нарушение иннервации вносит важный вклад в уменьшение мышечной силы наряду с атрофией и истощением миоцитов [2].

Увеличение латентности М-ответа отражает снижение скорости распростране-

ния электрического импульса по нервному волокну и может указывать на наличие демиелинизации нерва. Увеличение длительности М-ответа свидетельствует о его темпоральной дисперсии, что в свою очередь обусловлено десинхронизацией распространения возбуждения по эфферентным нервам и его передачи на мышечное волокно [5]. Сочетание снижения амплитуды и увеличения длительности М-ответа может являться признаком демиелинизирующего поражения *n. ischiadicus*, а изолированное увеличение длительности при постоянной амплитуде с наибольшей вероятностью является следствием увеличения латентности ответов.

### Выводы

Таким образом, результаты ЭНМГ-исследования указывают на наличие у мышей db/db периферической аксонально-демиелинизирующей нейропатии с преимущественным поражением нервов нижних конечностей. Полученные данные свидетельствуют о высокой клинической релевантности данной линии в качестве модели диабетической периферической полинейропатии.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Bayley J.S., Pedersen T.H., Nielsen O.B. Skeletal muscle dysfunction in the db/db mouse model of type 2 diabetes. *Muscle Nerve*. 2016;54(3):460–468. DOI: 10.1002/mus.25064.
2. Munier J.J., Pank J.T., Severino A., Wang H., Zhang P., Vergnes L., Reue K. Simultaneous monitoring of mouse grip strength, force profile, and cumulative force profile distinguishes muscle physiology following surgical, pharmacologic and diet interventions. *Sci. Rep.* 2022;12(1):16428. DOI: 10.1038/s41598-022-20665-y.
3. Nguyen M.H., Cheng M., Koh T.J. Impaired muscle regeneration in ob/ob and db/db mice. *Sci. World J.* 2011;11:1525–1535. DOI: 10.1100/tsw.2011.137.
4. Pollari E., Prior R., Robberecht W., Van Damme P., Van Den Bosch L. In vivo electrophysiological measurement of compound muscle action potential from the forelimbs in mouse models of motor neuron degeneration. *J. Vis. Exp.* 2018;(136):57741. DOI: 10.3791/57741.
5. Preston D.C. Approach to nerve conduction studies and electromyography. In: Preston D.C., Shapiro B.E., editors. *Electromyography and neuromuscular disorders*. 3<sup>rd</sup> ed. London: W.B. Saunders Publ., 2013.
6. Suriano F., Vieira-Silva S., Falony G., Roumain M., Paquot A., Pelicaen R., Régnier M., Delzenne N.M., Raes J., Muccioli G.G., Van Hul M., Cani P.D. Novel insights into the genetically obese (ob/ob) and diabetic (db/db) mice: Two sides of the same coin. *Microbiome*. 2021;9(1):147. DOI: 10.1186/s40168-021-01097-8.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Приходько Вероника Александровна\***, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России; ФГБУН Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН;

**[e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com](mailto:veronika.prihodko@pharminnotech.com)**

**Veronika A. Prikhodko\***, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia; N.P. Bechtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences;

**[e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com](mailto:veronika.prihodko@pharminnotech.com)**

**Матузок Татьяна Максимовна**, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России; ФГБУН Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН;

**[e-mail: matuzok.tatyana@pharminnotech.com](mailto:matuzok.tatyana@pharminnotech.com)**

**Tatyana M. Matuzok**, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia; N.P. Bechtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences;

**[e-mail: matuzok.tatyana@pharminnotech.com](mailto:matuzok.tatyana@pharminnotech.com)**

**Оковитый Сергей Владимирович**, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России; ФГБУН Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН;

**[e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com](mailto:sergey.okovity@pharminnotech.com)**

**Sergey V. Okovityi**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia; N.P. Bechtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences;

**[e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com](mailto:sergey.okovity@pharminnotech.com)**

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



## ПРОФИЛЬ БЕЗОПАСНОСТИ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ДИМЕТИЛАМИНОЭТАНОЛА ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ПУТИ ВВЕДЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫМ ЖИВОТНЫМ

Е.Б. Шустов<sup>1,\*</sup>, А.Е. Ким<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. С.Н. Голикова» ФМБА России  
192019, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1

<sup>2</sup> ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России  
194044, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

Новое производное диметиламиноэтанола, бутандиовой и транс-бутендиовой кислот (лабораторный шифр АДК-17) синтезировано на кафедре органической химии СПбХФУ Минздрава России (заведующий кафедрой — проф. И.П. Яковлев) и представляет собой перспективное средство, планируемое к применению в виде пероральной лекарственной формы. Цель работы — оценка проявлений общей и специфической токсичности нового лекарственного средства. Тест-системами для доклинического изучения безопасности нового соединения были лабораторные животные (белые мыши, крысы, кролики, морские свинки). В работе изучались проявления общей токсичности (острой и хронической), местнораздражающего действия, алергизирующих свойств, иммунотоксического действия, выполнялось исследование репродуктивной токсичности препарата «АДК-17» при внутрижелудочном введении. Показано, что исследуемый препарат малотоксичен, а в условиях курсового применения не вызывает изменений биохимических и морфологических показателей крыс и кроликов, не оказывает негативного воздействия на внутренние органы, не оказывает раздражающего эффекта. Применение препарата не приводило к развитию местной аллергической реакции немедленного типа. Проведение сенсибилизации в реакции ГЗТ показало отсутствие сенсибилизирующего действия. При изучении иммунотоксического действия препарата показано, что при введении в течение 30 дней препарат АДК-17 в дозах 93 и 930 мг/кг не приводил к нарушению гуморального иммунного ответа и снижению выработки антител. Постановка реакции гиперчувствительности замедленного типа также подтверждает, что препарат не влияет на развитие клеточного иммунитета.

В условиях многократного внутрижелудочного введения в дозах 50 и 250 мг/кг беременным самкам препарат не оказал негативного действия на репродуктивную систему лабораторных животных, эмбрио- и фетотоксического, а также тератогенного действия, не повлиял на антенатальное и постнатальное развитие потомства.

**Ключевые слова:** диметиламиноэтанол, лекарственная безопасность, специальные виды токсичности

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

**Для цитирования:** Шустов Е.Б., Ким А.Е. Профиль безопасности нового производного диметиламиноэтанола при пероральном пути введения лабораторным животным. *Биомедицина*. 2023;19(3): 82–86. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-82-86>

Поступила 17.04.2023

Принята после доработки 15.08.2023

Опубликована 10.09.2023

## SAFETY PROFILE OF A NEW DIMETHYLAMINOETHANOL DERIVATIVE BY ORAL ADMINISTRATION TO LABORATORY ANIMALS

Evgeny B. Shustov<sup>1,\*</sup>, Aleksey E. Kim<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Scientific and Clinical Center of Toxicology named after S.N. Golikov  
of the Federal Medical and Biological Agency of Russia  
192019, Russian Federation, St. Petersburg, Bekhtereva Str., 1*

<sup>2</sup> *Military Medical Academy named after S.M. Kirov of the Ministry of Defense of Russia  
194044, Russian Federation, St. Petersburg, Akademika Lebedeva Str., 6*

A new derivative of dimethylaminoethanol, butanedioic and trans-butenedioic acids (laboratory code ADK-17) was synthesized at the Department of Organic Chemistry (Professor I.P. Yakovlev is the Head of the Department) of St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). This is a promising compound planned for use as an oral dosage form. In this work, we aim to evaluate manifestations of the general and specific toxicity of the new drug. Laboratory animals (white mice, rats, rabbits, guinea pigs) were used as test systems for the preclinical safety study of the new compound. Manifestations of general toxicity (acute and chronic), local irritant action, allergenic properties, immunotoxic action were studied. The reproductive toxicity of the ADK-17 drug when administered intragastrically was studied. The studied drug was found to exhibit low toxicity, cause no changes in the biochemical and morphological parameters of rats and rabbits under the conditions of course use, and have no negative effects on internal organs. When administered intragastrically in maximum doses, the drug causes no irritating effects. The use of the drug did not lead to the development of a local allergic reaction of an immediate type. Carrying out sensitization in the DTH reaction showed the absence of a sensitizing effect. The study of the immunotoxic effect of the ADK-17 drug showed that its prolonged intragastric administration for 30 days at doses of 93 and 930 mg/kg did not lead to a violation of the humoral immune response and a decrease in antibody production. Setting a delayed-type hypersensitivity reaction also confirms that the drug does not affect the development of cellular immunity. The conducted experimental studies of the drug's reproductive toxicity in rats showed that its repeated intragastric administration at doses of 50 and 250 mg/kg to pregnant females did not have a negative effect on the reproductive system of laboratory animals, embryo- and fetotoxic, as well as teratogenic effects, having no effect on the antenatal and postnatal development of offspring.

**Keywords:** dimethylaminoethanol, drug safety, special toxicities

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

**For citation:** Shustov E.B., Kim A.E. Safety Profile of a New Dimethylaminoethanol Derivative by Oral Administration to Laboratory Animals. *Journal Biomed.* 2023;19(3):82–86. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-82-86>

Submitted 17.04.2023

Revised 15.08.2023

Published 10.09.2023

### Введение

Изучение профиля безопасности новых потенциально перспективных лекарственных средств является обязательным элементом доклинического их изучения [1–3].

Новое производное диметиламиноэтанола, бутандиовой и транс-бутендиовой кис-

лот (лабораторный шифр АДК-17) синтезировано на кафедре органической химии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета (заведующий кафедрой — профессор И.П. Яковлев) и представляет собой средство, планируемое к применению в виде перо-

ральной лекарственной формы. Для данного соединения ранее не изучались показатели, характеризующие его безопасность, в связи с чем **целью работы** была оценка проявлений общей и специфической токсичности нового потенциально перспективного лекарственного средства.

## Материалы и методы

Острая токсичность изучалась при внутрижелудочном введении на половозрелых аутбредных мышах и крысах обоего пола. Хроническая токсичность изучалась при внутрижелудочном введении на крысах и кроликах обоего пола. Животных содержали в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)».

При исследовании острой токсичности максимальная доза была лимитирована максимально возможным объемом введения раствора препарата. При исследовании хронической токсичности исследуемые дозы тестируемого препарата и контрольное вещество вводились в организм подопытных животных ежедневно, внутрижелудочно, на протяжении 30, 60 и 90 дней. Тестируемые дозы определялись на основании рекомендованных доз для человека [2, 5]. Ввиду того, что при исследовании острой токсичности на максимальных дозах на мышах и на крысах гибели животных не наблюдалось и LD не определена, были выбраны три дозы: первая — терапевтическая, вторая — пятикратная, и третья — двадцатикратная. Таким образом, при изучении хронической токсичности в рамках проведенного эксперимента тестировались дозы 40, 200 и 800 мг/кг.

Биохимические показатели в сыворотке крови определяли на анализаторе «ChemWell+» (США) с использованием реагентов фирмы «Витал» (Россия). Гематологические исследования цельной крови выполнялись на гематологическом

анализаторе BC-3200 (Mundrey). Функцию выделительной системы исследовали в метаболических клетках, определяли рН мочи, плотность, качественное определение белка в моче — на анализаторе мочи URISIS 1100.

Для установления негативного влияния препарата на генеративную функцию длительность введения составила 60 дней крысам-самцам и 15 дней крысам-самкам, что позволило оценить влияние препарата на ово- и сперматогенез. Для оценки эмбрио- и фетотоксического действия, регистрируемых в антенатальный и постнатальный периоды развития, препарат АДК-17 вводили в период беременности и 25 дней в период вскармливания.

## Результаты и их обсуждение

Токсикометрические исследования на мышах и крысах обоего пола при однократном внутрижелудочном введении АДК-17 в возрастающих дозах в диапазоне от 1000 до 8000 мг/кг не выявили ни одного случая гибели животных. В связи с этим LD<sub>50</sub> не была определена, но она превышала уровень 7000 мг/кг для мышей и 8000 мг/кг для крыс. У всех животных отмечалось повышение двигательной активности; признаков интоксикации у животных не наблюдали. В условиях хронической токсичности при курсовом применении на протяжении 30 дней введения в однократной, пятикратной и двадцатикратной дозе при периоде наблюдения 90 дней клинических признаков системной интоксикации у животных не наблюдалось. При некропии морфологических, гистологических, гематологических, биохимических признаков интоксикации в периоде наблюдения как при остром, так и хроническом токсическом воздействии не наблюдалось. Влияние препарата на показатели мочи не выявило значимых отличий между группами с различной дозой вводимого соединения АДК-17 [4].

В тесте открытого поля при однократном и курсовом введении перорально в дозах 200 и 800 мг/кг выявлено повышение как горизонтальной, так и вертикальной двигательной активности, а также снижение доли неподвижного состояния животных (для дозы 800 мг/кг), что отражает психоактивирующий компонент действия препарата. При этом никаких признаков судорожной активности выявлено не было.

В экспериментах по изучению острой и подострой токсичности препарата при внутрижелудочном введении с помощью морфологических и гистологических методов показано, что препарат в дозах 200 и 800 мг/кг при ежедневном введении не оказывает выраженного раздражающего действия на ЖКТ крыс.

В кожном тесте анафилактики у морских свинок не выявлены признаки сенсибилизации к вводимому соединению. Курсовое введение препарата АДК-17 в дозах 93 и 930 мг/кг не приводило к нарушениям гуморального иммунного ответа и фагоцитарной активности макрофагов.

В исследовании репродуктивной токсичности на беременных самках крыс установлено, что исследуемое соединение не оказывает какого-либо негативного влияния на показатели пренатальной смертности, овуляторные процессы и эмбриогенез. Эмбриотоксические и фетотоксические эффекты по данному соединению не выявлены.

### Закключение

Исследуемое соединение АДК-17 при пероральном введении мелким лабораторным животным относится к V классу практически нетоксичных лекарственных веществ либо более низкому классу (VI) [4]. Результаты проведенного исследования подтверждают, что препарат не проявляет иммунотоксического действия по отношению к клеточному, гуморальному и неспецифическому звену иммунного ответа. Для него не характерна репродуктивная токсичность. Препарат характеризуется благоприятным профилем безопасности.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Березовская И.В. Прогноз безопасности лекарственных средств в доклинических токсикологических исследованиях. *Токсикологический вестник*. 2010;5(104):17–22. [Berezovskaja I.V. Prognoz bezopasnosti lekarstvennykh sredstv v doklinicheskikh toksikologicheskikh issledovaniyakh [Prediction of drug safety in preclinical toxicological studies]. *Toksikologicheskij vestnik [Toxicological Review]*. 2010;5(104):17–22. (In Russian)].
2. Каркищенко Н.Н. *Альтернативы биомедицины. Т. 2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии*. М.: Изд-во ВПК, 2007:448. [Karkischenko N.N. *Al'ternativy biomeditsiny. T. 2. Klassika i al'ternativy farmakotoksikologii [Alternatives to biomedicine. Vol. 2. Classics and alternatives of pharmacotoxicology]*. Moscow: VPK Publ., 2007:448. (In Russian)].
3. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012:944. [*Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs]*. Part 1. Moscow: Grif i K Publ., 2012:944. (In Russian)].
4. Gosselin R.E., Hodge H.C., Smith R.P., Gleason M.N. *Clinical toxicology of commercial products: Acute poisoning*. 4th ed. Baltimore: DeWilliams and Wilkins Company, 1976:332.
5. Test No. 421: *Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test*. OECD; 2015:1–27. DOI: 10.1787/9789264242692-en.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Шустов Евгений Борисович\***, д.м.н., проф.,  
ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. С.Н. Голикова» ФМБА России;  
[e-mail: shustov-msk@mail.ru](mailto:shustov-msk@mail.ru)

**Evgeny B. Shustov\***, Dr. Sci. (Med.), Prof.,  
Scientific and Clinical Center of Toxicology named  
after S.N. Golikov of the Federal Medical and  
Biological Agency of Russia;  
[e-mail: shustov-msk@mail.ru](mailto:shustov-msk@mail.ru)

**Ким Алексей Евгеньевич**, к.м.н., доц.,  
ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия  
им. С.М. Кирова» Минобороны России;  
[e-mail: alexpann@mail.ru](mailto:alexpann@mail.ru)

**Aleksey E. Kim**, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof.,  
Military Medical Academy named after S.M. Kirov of  
the Ministry of Defense of Russia;  
[e-mail: alexpann@mail.ru](mailto:alexpann@mail.ru)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ II ФАЗЫ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ДИРЕКОРД: РАНДОМИЗИРОВАННОЕ, ДВОЙНОЕ СЛЕПОЕ, ПЛАЦЕБО-КОНТРОЛИРУЕМОЕ, С ПАРАЛЛЕЛЬНЫМИ ГРУППАМИ, ПРОСПЕКТИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПО ПОДБОРУ ОПТИМАЛЬНОЙ ДОЗИРОВКИ И ИЗУЧЕНИЮ ЭФФЕКТИВНОСТИ, БЕЗОПАСНОСТИ И ПЕРЕНОСИМОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ В РАННЕМ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

И.А. Помыткин<sup>1,\*</sup>, В.В. Писарев<sup>2</sup>, М.Е. Меркулов<sup>2</sup>, Е.Б. Кузнецова<sup>3</sup>, Е.А. Салина<sup>3</sup>,  
А.Ю. Малыгин<sup>4</sup>, Н.Н. Каркищенко<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> ООО «Научно-производственный центр Пробиотек»  
119992, Российская Федерация, Москва, мкр. Ленинские горы, 1, стр. 75В

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет  
им. В.И. Разумовского» Минздрава России  
410012, Российская Федерация, Саратовская обл., Саратов, ул. Большая Казачья, 112

<sup>4</sup> ГБУЗ Ярославской области «Клиническая больница № 2»  
150030, Российская Федерация, Ярославская обл., Ярославль, Суздальское ш., 39

Дирекорд — оригинальный препарат, содержащий действующее вещество дихолинсукцинат, улучшающее чувствительность инсулиновых рецепторов в нейронах к инсулину. Целью работы был подбор оптимальной дозировки и изучение эффективности, безопасности и переносимости препарата у пациентов с ишемическим инсультом в раннем восстановительном периоде. 132 пациента после первого ишемического инсульта в каротидной системе, подтвержденного компьютерной или магнитно-резонансной томографией, с давностью инсульта от 3 нед. до 2 мес., средний возраст —  $64,35 \pm 8,03$  года, рандомизировали в три терапевтические группы. В первой группе ( $n=44$ ) пациентам вводили внутримышечно Дирекорд в дозе 400 мг/сут., во второй ( $n=44$ ) — Дирекорд в дозе 600 мг/сут. и в третьей — плацебо в течение двух недель. Ответом на терапию считалось улучшение неврологического статуса, функционального состояния и когнитивных функций пациентов: как минимум двукратное снижение общего счёта по шкале NIHSS, общий счёт по шкале Бартел  $\geq 95$ , общий счёт по шкале MoCA  $\geq 26$ . Через 4 недели после начала исследования в первой группе на терапию ответили 15 (34,1%) пациентов, во второй группе — 19 (43,2%), в третьей группе — 8 (18,2%) пациентов. Анализ с использованием точного критерия Фишера выявил статистически значимое отличие между группами ( $p=0,036$ ). Эти результаты позволяют утверждать, что препарат статистически и клинически значимо превосходит плацебо при двухнедельной внутримышечной терапии в дозе 600 мг/сут. у пациентов с ишемическим инсультом в каротидной системе в раннем восстановительном периоде. Профиль безопасности препарата Дирекорд при использовании в различных режимах терапии не отличается от такового для плацебо. Предполагается, что исследование III фазы позволит подтвердить полученные в данном исследовании предварительные результаты.

**Ключевые слова:** Дирекорд, дихолинсукцинат, нейрональный инсулин-сенситайзер, клиническое исследование II фазы, ишемический инсульт, ранний восстановительный период

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

**Финансирование:** ООО «Эллара», 601122, Российская Федерация, Владимирская обл., Петушинский р-н, г. Покров, ул. Франца Штольверка, 20.

**Для цитирования:** Помыткин И.А., Писарев В.В., Меркулов М.Е., Кузнецова Е.Б., Салина Е.А., Мальягин А.Ю., Каркищенко Н.Н. Результаты клинического исследования II фазы лекарственного препарата Дирекорд: рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое, с параллельными группами, проспективное исследование по подбору оптимальной дозировки и изучению эффективности, безопасности и переносимости у пациентов с ишемическим инсультом в раннем восстановительном периоде. *Биомедицина*. 2023;19(3):87–96. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-87-96>

Поступила 26.07.2023

Принята после доработки 31.07.2023

Опубликована 10.09.2023

## PHASE II CLINICAL TRIAL OF DIREKORD: RANDOMIZED, DOUBLE-BLIND, PLACEBO-CONTROLLED, PARALLEL GROUP, AND PROSPECTIVE STUDIES TO SELECT OPTIMAL DOSAGE AND TO STUDY THE EFFICACY, SAFETY, AND TOLERABILITY IN ISCHEMIC STROKE PATIENTS IN THE EARLY RECOVERY PERIOD

Igor A. Pomytkin<sup>1,\*</sup>, Vladimir V. Pisarev<sup>2</sup>, Mikhail E. Merkulov<sup>2</sup>, Elena B. Kuznetsova<sup>3</sup>, Ekaterina A. Salina<sup>3</sup>, Alexander Yu. Malygin<sup>4</sup>, Nikolay N. Karkischenko<sup>1</sup>

<sup>1</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

<sup>2</sup> Scientific and Production Center Probiotek 119992, Russian Federation, Moscow, Leninskie Gory Microdistrict, 1, building 75B

<sup>3</sup> Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky of the Ministry of Health Care of Russia 410012, Russian Federation, Saratov Region, Bolshaya Kazachia Str., 112

<sup>4</sup> Yaroslavl Clinical Hospital No. 2 150030, Russian Federation, Yaroslavl Region, Yaroslavl, Suzdalskoe Highway, 39

Direkord is an original drug containing the active substance of dicholine succinate, which improves the sensitivity of insulin receptors in neurons to insulin. The aim of the work was to select an optimal dosage and to study the efficacy, safety, and tolerability of Direkord, a solution for intramuscular injection, in ischemic stroke patients in the early recovery period. In total, 132 patients after the first ischemic stroke in the carotid system, confirmed by computed or magnetic resonance imaging, with the stroke remoteness from 3 weeks to 2 months and the mean age of 64.35±8.03 years, were randomized into three treatment groups. Patients in the first (n=44) and second (n=44) groups received Direkord intramuscularly for two weeks at a dose of 400 mg/day and 600 mg/day, respectively. Patients in the third group received placebo. The treatment response was assessed in terms of improved neurological status, functional state, and cognitive functions, including at least a two-fold decrease in the total score on the NIHSS scale, the total score on the Barthel scale ≥95, and the total score on the MoCA scale ≥26. Four weeks after the onset of the study, 34.1, 43.2, and 18.2% of the patients responded to therapy in the first, second, and third group, respectively. An analysis based on the Fisher's exact test revealed a statistically significant difference between the groups (p=0.036). These results suggest that Direkord is statistically and clinically significantly superior

to placebo at a two-week intramuscular therapy at a dose of 600 mg/day in patients with ischemic carotid stroke in the early recovery period. The safety profile of Direkord when used in various therapy regimens does not differ from that of placebo. The phase III study should confirm the preliminary results obtained in the current work.

**Keywords:** Direkord, dicholinsuccinate, neuronal insulin sensitizer, phase II clinical trial, ischemic stroke, early recovery period

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

**Funding:** LLC “Ellara”, 601122, Russian Federation, Vladimir Region, Petushinsky District, Pokrov, Franz Stollwerk str., 20.

**For citation:** Pomytkin I.A., Pisarev V.V., Merkulov M.E., Kuznetsova E.B., Salina E.A., Malygin A.Yu., Karkischenko N.N. Phase II Clinical Trial Of Direkord: Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel Group, and Prospective Studies to Select the Optimal Dosage and Study the Efficacy, Safety, and Tolerability in Ischemic Stroke Patients in the Early Recovery Period. *Journal Biomed.* 2023;19(3):87–96. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-87-96>

Submitted 26.07.2023

Revised 31.07.2023

Published 10.09.2023

## Введение

Дирекорд — оригинальный препарат, содержащий в качестве действующего вещества дихолинсукцинат, соль холина и янтарной кислоты 2:1. Дихолинсукцинат — доказанный в доклинических исследованиях нейрональный инсулин-сенситайзер, повышающий чувствительность инсулиновых рецепторов в нейронах к низким субоптимальным концентрациям инсулина [5–7]. Ишемический инсульт сопровождается постинсультной инсулиновой резистентностью — сниженным биологическим ответом на эндогенный инсулин [1–4]. Статистически значимая положительная корреляция между индексом инсулиновой резистентности HOMA-IR и значениями шкалы тяжести инсульта NIHSS наблюдалась у пациентов без диабета, перенёвших ишемический инсульт, причём пациенты с высокими значениями индекса HOMA-IR имели повышенный риск неблагоприятного клинического исхода. Поэтому разработка средств, улучшающих чувствительность к инсулину в постинсультном периоде, является обоснованным подходом к лечению ишемического инсульта.

Ранее результаты первой фазы клинических исследований показали, что препарат

Дирекорд обладает хорошим профилем безопасности и может быть рекомендован для дальнейшего изучения в исследовании с участием пациентов.

**Целью работы** был подбор оптимальной дозировки и изучение эффективности, безопасности и переносимости лекарственного препарата Дирекорд, р-р для внутримышечного введения, у пациентов с ишемическим инсультом в раннем восстановительном периоде.

## Материалы и методы

### Место проведения и регламентирующие документы

Рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое, с параллельными группами, проспективное исследование по подбору оптимальной дозировки и изучению эффективности, безопасности и переносимости лекарственного препарата Дирекорд, р-р для внутримышечного введения, у пациентов с ишемическим инсультом в раннем восстановительном периоде было проведено с 12.11.2018 по 15.06.2019 г. в трёх клинических центрах, одобренных Минздравом России: государственном учреждении здравоохранения «Саратовская

городская клиническая больница № 9» (ГУЗ СГКБ № 9, г. Саратов), государственном учреждении здравоохранения Ярославской области «Клиническая больница № 2» (ГБУЗ ЯО «КБ № 2», г. Ярославль) и государственном бюджетном учреждении здравоохранения Тверской области «Областной клинический лечебно-реабилитационный центр» (ГБУЗ ТО «ОКЛРЦ», г. Тверь). Клиническое исследование II фазы проводили в соответствии с утверждённым протоколом и этическими принципами Хельсинкской Декларации Всемирной медицинской ассоциации, международными принципами Надлежащей клинической практики (ICH GCP), и регламентировалось действующим законодательством РФ: Конституция РФ; Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации»; Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»; Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика» от 27.09.2005 № 232-ст); Постановление Правительства РФ от 13.09.2010 № 714 «Об утверждении типовых правил обязательного страхования жизни и здоровья пациента, участвующего в клинических исследованиях лекарственного препарата»; Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 200н «Об утверждении правил надлежащей клинической практики»; Приказ Росздравнадзора № 1071 от 15.02.2017 «Об утверждении порядка осуществления фармаконадзора»; Приказ Минпромторга России от 14.06.2013 № 916 (ред. 18.12.2015) «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики»; Правила регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения (Решение ЕАЭС от 03.11.2016 № 78); Правила надлежащей клинической практики ЕАЭС (Решение ЕАЭС от 03.11.2016 № 79); Решение ЕАЭС

№ 87 об утверждении правил фармаконадзора; Постановление Правительства РФ от 18.05.2011 № 393 «О внесении изменений в Типовые правила обязательного страхования жизни и здоровья пациента, участвующего в клинических исследованиях лекарственного препарата»; Разрешение № 14 от 17.01.2018 на проведение клинического исследования, выданное Минздравом России. Протокол исследования, Брошюра исследователя, Информационный листок пациента с формой информированного согласия на участие в исследовании и образец Индивидуальной регистрационной карты были одобрены Советом по этике и локальными этическими комитетами медицинских организаций. Всем добровольцам в ходе разъяснительной беседы и в письменной форме была предоставлена исчерпывающая информация, касающаяся всех аспектов проводимого исследования.

#### **Критерии отбора**

В исследовании участвовали 132 пациента, мужчины и женщины в возрасте от 45 до 80 лет включительно, после первого ишемического инсульта в каротидной системе, подтверждённого компьютерной или магнитно-резонансной томографией, с давностью инсульта не менее 3 недель и не более 2 мес. от момента появления неврологической симптоматики, с оценкой по шкале тяжести инсульта NIHSS от 3 до 8 баллов включительно, оценкой по шкале когнитивных функций MoCA менее 24 баллов, при наличии письменного информированного согласия, подписанного пациентом или его законным представителем, а также готовые и способные к заполнению необходимых шкал и выполнению графика посещений. Критериями невключения были геморрагический инсульт, тотальная афазия, наличие возникших до инсульта сопутствующих заболеваний, таких как значимое ограничение двигательной активности, психические заболевания, деменция; неврологические заболевания, такие, как эпи-

лепсия, болезнь Паркинсона, рассеянный склероз; декомпенсированный сахарный диабет, алкоголизм, наркотическая зависимость, злоупотребление психоактивными веществами в анамнезе, почечная недостаточность, тяжёлая печёночная недостаточность или аномальные значения лабораторных показателей на скрининге, тяжёлые сердечно-сосудистые или церебро-сосудистые заболевания в анамнезе, системное инфекционное заболевание, неконтролируемая артериальная гипертензия с высокими показателями артериального давления выше 220/110 мм рт. ст. Кроме того, в исследование не включались женщины с сохранённым потенциалом деторождения; лица с известной гиперчувствительностью к любому из компонентов препарата; а также лица, принимавшие участие в исследовании любого экспериментального или зарегистрированного лекарственного препарата, изделия медицинского назначения или биологического агента в течение 1 мес. до момента включения.

### **Исследуемый препарат**

В исследовании использован оригинальный препарат Дирекорд производства ООО «Эллара» (Россия), р-р для внутримышечного введения, действующее вещество — дихолинсукцинат, 100 мг/мл. Химическое наименование: N-(2-гидроксиэтил)-N,N,N-триметиламмония сукцинат (2:1).

### **План исследования**

Пациенты, прошедшие стадию скрининга и подписавшие информированное согласие, были рандомизированы в три группы по 44 пациента и получали Дирекорд внутримышечно по 200 мг (2 мл) два раза в день в течение 14 дней (группа 1); Дирекорд внутримышечно по 200 мг (2 мл) три раза в день в течение 14 дней (группа 2); или плацебо внутримышечно по 200 мг (2 мл) три раза в день в течение 14 дней (группа 3). Чтобы избежать маскировки, пациенты группы 1 дополнительно получали одну инъекцию плацебо в день. План исследования показан на рисунке.

### **Оценка эффективности**

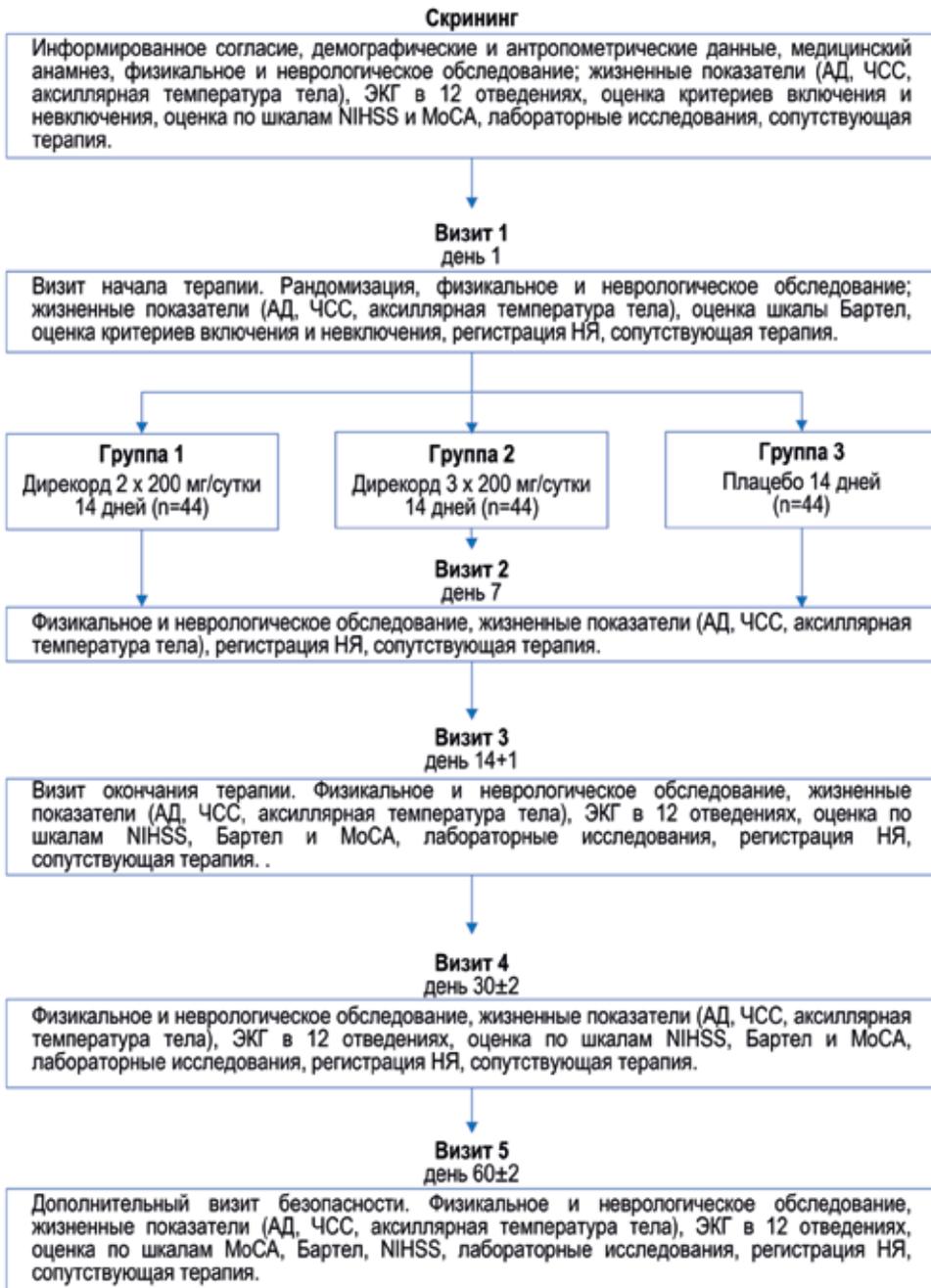
Первичной конечной точкой эффективности была выбрана доля пациентов, ответивших на проводимую терапию. Ответом на терапию считается улучшение функционального состояния, когнитивных функций и неврологического статуса пациентов: как минимум двукратное снижение общего счёта по шкале тяжести инсульта NIHSS, общий счёт по шкале Бартел  $\geq 95$ , общий счёт по шкале MoCA  $\geq 26$ .

### **Оценка безопасности**

Безопасность терапии оценивалась по частоте нежелательных явлений (НЯ); динамике жизненно важных показателей; динамике лабораторных параметров; ЭКГ в 12 отведениях и данным физикального осмотра.

### **Статистический анализ**

Выборочные параметры, приводимые в таблицах, имеют следующие обозначения:  $M$  — среднее,  $s$  — стандартное отклонение,  $n$  — объём анализируемой подгруппы,  $p$  — достигнутый уровень значимости. Критерии Шапиро — Уилка либо Колмогорова — Смирнова применялись для выбора параметрических или непараметрических методов анализа. При оценке эффективности терапии первичная точка анализировалась с помощью точного критерия Фишера на основе статистической гипотезы, что терапия с применением исследуемого препарата не превосходит по эффективности терапию плацебо. Показатели безопасности, а также их изменения представлены с помощью описательной статистики по визитам и терапевтическим группам. Сравнение по визитам между группами проводилось на основе критерия  $\chi^2$  Пирсона или точного критерия Фишера. Средние значения количественных показателей безопасности (жизненные показатели, результаты общего и биохимического анализа крови), а также их средние изменения по сравнению с исходными значениями сравнивались между группами с помощью однофакторного ана-



*Рис. План исследования*  
*Fig. Study plan*

лиза ANOVA с терапией в качестве фактора. Динамика количественных показателей безопасности относительно исходных значений оценивалась и сравнивалась для препарата исследования и плацебо с помощью дисперсионного анализа ANOVA с повторяющимися измерениями. Критический уровень значимости принимался равным 5%. Статистический анализ проводился при помощи статистического пакета R 3.4.

### Результаты и их обсуждение

Исходные демографические и антропометрические характеристики пациентов суммированы в табл. 1. Критерий  $\chi^2$  не выявил статистически значимых различий между группами по распределению мужчин и женщин ( $p > 0,05$ ). Дисперсионный анализ ANOVA с терапией в качестве фактора не выявил статистически значимых различий между терапевтическими группами ( $p > 0,05$ ) ни по одному из следующих показателей: возраст, масса тела, рост и индекс массы тела (ИМТ). Сопутствующую терапию получали 100% пациентов во всех трёх терапевтических группах.

### Анализ первичной конечной точки эффективности

Первичная конечная точка анализировалась сразу после окончания терапии (визит 3) и через 2 недели после её окончания (визит 4). На визите 3 ни один пациент ни в одной из исследуемых групп не ответил на терапию, исходя из заданных критериев ответа. Однако на визите 4 было зафиксировано, что в группе 1 (Дирекорд, 2×200 мг/сут.) на терапию ответили 15 (34,1%) пациентов, в группе 2 (Дирекорд, 3×200 мг/сут.) — 19 (43,2%) и в группе 3 (Плацебо) — 8 (18,2%) пациентов (табл. 2). Точный критерий Фишера выявил статистически значимое отличие между группами ( $p = 0,036$ ). Таким образом, отвергается нулевая гипотеза о том, что Дирекорд не превосходит по эффективности плацебо в лечении пациентов с ишемическим инсультом в раннем восстановительном периоде.

Наибольшее количество пациентов, ответивших на терапию, было выявлено в группе тех, кто получал Дирекорд в дозе 600 мг/сут., — на 25% больше, чем в группе пациентов, получавших плацебо. Данный

Таблица 1. Исходные характеристики пациентов

Table 1. Baseline characteristics of patients

Показатель	Группы		
	Дирекорд, 2×200	Дирекорд, 3×200	Плацебо
Пол: женщины / мужчины	26 / 18	20 / 14	18 / 26
Возраст, лет ( $M \pm s$ )	66,52±7,12	62,82±8,27	63,70±8,32
Масса тела, кг ( $M \pm s$ )	76,90±11,11	77,99±10,12	78,84±12,38
Рост, м ( $M \pm s$ )	1,65±0,07	1,70±0,07	1,69±0,06
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup> ( $M \pm s$ )	28,16±4,24	27,14±3,99	27,60±4,37

Таблица 2. Распределение пациентов, ответивших на терапию, на визите 4

Table 2. Distribution of patients who responded to therapy at visit 4

Показатель	Результат	Группы					
		Дирекорд, 2 × 200 мг/сут.		Дирекорд, 3 × 200 мг/сут.		Плацебо	
		n	%	n	%	n	%
Пациент ответил на проводимую терапию	Нет	29	65,9	25	56,8	36	81,8
	Да	15	34,1	19	43,2	8	18,2

результат позволяет утверждать, что препарат Дирекорд статистически и клинически значимо превосходит плацебо при лечении ишемического инсульта в каротидной системе в раннем восстановительном периоде.

### Оценка безопасности

В исследовании было отмечено 6 НЯ у 6 (13,6%) пациентов в группе 1 (Дирекорд, 2×200 мг/сут.), 3 НЯ у 3 (6,8%) пациентов в группе 2 (Дирекорд, 3×200 мг/сут.) и 5 НЯ у 5 (11,4%) пациентов в группе плацебо. Статистически значимой разницы между группами не выявлено ( $p=0,682$ , точный критерий Фишера). Все нежелательные явления, возникшие у пациентов в ходе исследования, были лёгкой степени тяжести и завершились к моменту окончания исследования. Ни одно из НЯ не потребовало отмены исследуемых препаратов или изменения режима терапии. В группе 1 были зарегистрированы следующие НЯ: боль в животе — 2 (4,5%), гипертонический криз — 2 (4,5%), ОРВИ — 1 (2,3%), острый ринит — 1 (2,3%). В группе 2 были зарегистрированы следующие НЯ: анемия — 1 (2,3%), головная боль — 2 (4,5%). В группе 3 были зарегистрированы следующие НЯ: боль при введении препарата — 1 (2,3%), головная боль — 1 (2,3%), головокружение — 1 (2,3%), острый ринит — 1 (2,3%), повышение артериального давления — 1 (2,3%).

Случаев смерти и серьёзных НЯ в ходе исследования не было.

Однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с терапией в качестве фактора не выявил статистически значимых различий средних изменений показателей как общего анализа крови, так и биохимического анализа крови между группами ( $p>0,05$ ).

Точный критерий Фишера показал, что распределение оценок норма/отклонения для значений показателей общего анализа крови и анализа мочи по визитам статистически значимо не отличалось между группами ( $p>0,05$ ).

Дисперсионный анализ ANOVA показал статистически значимое снижение средних значений систолического ( $p<0,001$ ) и диастолического ( $p<0,001$ ) артериального давления в ходе исследования, сходное для всех трёх терапевтических групп ( $p>0,05$ ). Для показателя «частота сердечных сокращений» (ЧСС) дисперсионный анализ ANOVA не показал статистически значимых отличий между группами ( $p>0,05$ ). Для показателя «температура тела» дисперсионный анализ ANOVA показал наличие статистически значимой динамики (повышение) средних значений ( $p=0,004$ ), сходной во всех трёх терапевтических группах ( $p>0,05$ ).

Распределение оценок норма/незначимые/значимые изменения результатов ЭКГ в 12 отведениях анализировалось при помощи точного критерия Фишера. Ни на одном из визитов не выявлено статистически значимых различий в распределении оценок между группами ( $p>0,05$ ).

Распределение оценок норма/отклонения результатов физического осмотра анализировалось при помощи точного критерия Фишера. Ни для одной из систем не выявлено статистически значимых различий в распределении оценок между группами в ходе исследования ( $p>0,05$ ).

Проведённый комплексный анализ позволяет сделать вывод о том, что профиль безопасности исследуемого препарата при использовании в различных режимах терапии не отличается от такового для плацебо.

### Выводы:

1. Результаты рандомизированного, двойного слепого, плацебо-контролируемого, с параллельными группами, проспективного исследования II фазы по подбору оптимальной дозировки и изучению эффективности, безопасности и переносимости лекарственного препарата Дирекорд, действующее вещество дихолинсукцинат, позволяют утверждать, что препарат ста-

тистически и клинически значимо превосходит плацебо при двухнедельной внутримышечной терапии в дозе 600 мг/сут. у пациентов с ишемическим инсультом в каротидной системе в раннем восстановительном периоде.

2. Профиль безопасности препарата Дирекорд при использовании в различных

режимах терапии не отличается от такового для плацебо.

3. Предполагается, что исследование III фазы с достаточной статистической мощностью позволит подтвердить полученные в данном исследовании предварительные результаты.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Åberg D., Åberg N.D., Jood K., Holmegaard L., Redfors P., Blomstrand C., Isgaard J., Jern C., Svensson J. Homeostasis model assessment of insulin resistance and outcome of ischemic stroke in non-diabetic patients — a prospective observational study. *BMC Neurol.* 2019;19(1):177. DOI: 10.1186/s12883-019-1406-3.
2. Ago T., Matsuo R., Hata J., Wakisaka Y., Kuroda J., Kitazono T., Kamouchi M.; Fukuoka Stroke Registry Investigators. Insulin resistance and clinical outcomes after acute ischemic stroke. *Neurology.* 2018;90(17):e1470–e1477. DOI: 10.1212/WNL.0000000000005358.
3. Jing J., Pan Y., Zhao X., Zheng H., Jia Q., Mi D., Chen W., Li H., Liu L., Wang C., He Y., Wang D., Wang Y., Wang Y.; investigators for ACROSS-China. Insulin resistance and prognosis of nondiabetic patients with ischemic stroke: The ACROSS-China study (Abnormal Glucose Regulation in Patients with Acute Stroke Across China). *Stroke.* 2017;48(4):887–893. DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.015613.
4. Li S., Yin C., Zhao W., Zhu H., Xu D., Xu Q., Jiao Y., Wang X., Qiao H. Homeostasis model assessment of insulin resistance in relation to the poor functional outcomes in nondiabetic patients with ischemic stroke. *Biosci. Rep.* 2018;38(3):BSR20180330. DOI: 10.1042/BSR20180330.
5. Pomytkin I., Costa-Nunes J.P., Kasatkin V., Veniaminova E., Demchenko A., Lyundup A., Lesch K.P., Ponomarev E.D., Strelkalova 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. DOI: 10.1111/cns.12866.
6. Storozheva Z.I., Proshin A.T., Sherstnev V.V., Storozhevykh T.P., Senilova Y.E., Persiyantseva N.A., Pinelis V.G., Semenova N.A., Zakharova E.I., Pomytkin I.A. Dicholine salt of succinic acid, a neuronal insulin sensitizer, ameliorates cognitive deficits in rodent models of normal aging, chronic cerebral hypoperfusion, and beta-amyloid peptide-(25-35)-induced amnesia. *BMC Pharmacol.* 2008;8:1. DOI: 10.1186/1471-2210-8-1.
7. Storozhevykh T.P., Senilova Y.E., Persiyantseva N.A., Pinelis V.G., Pomytkin I.A. Mitochondrial respiratory chain is involved in insulin-stimulated hydrogen peroxide production and plays an integral role in insulin receptor autophosphorylation in neurons. *BMC Neurosci.* 2007;8:84. DOI: 10.1186/1471-2202-8-84.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

**Писарев Владимир Викторович**, к.х.н., ООО «Научно-производственный центр Пробиотек»;  
[e-mail: vladimir.pisarev@probiotech.ru](mailto:vladimir.pisarev@probiotech.ru)

**Меркулов Михаил Евгеньевич**, ООО «Научно-производственный центр Пробиотек»;  
[e-mail: mikhail.merkulov@probiotech.ru](mailto:mikhail.merkulov@probiotech.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)

**Vladimir V. Pisarev**, Cand. Sci. (Chem.), Scientific and Production Center Probiotek;  
[e-mail: vladimir.pisarev@probiotech.ru](mailto:vladimir.pisarev@probiotech.ru)

**Mikhail E. Merkulov**, Scientific and Production Center Probiotek;  
[e-mail: mikhail.merkulov@probiotech.ru](mailto:mikhail.merkulov@probiotech.ru)

**Кузнецова Елена Борисовна**, к.м.н., доц.,  
ФГБОУ ВО «Саратовский государственный ме-  
дицинский университет им. В.И. Разумовского»  
Минздрава России;

**e-mail: [elenfeb77@mail.ru](mailto:elenfeb77@mail.ru)**

**Elena B. Kuznetsova**, Cand. Sci. (Med.), Assoc.  
Prof., Saratov State Medical University named after  
V.I. Razumovsky of the Ministry of Health Care of  
Russia;

**e-mail: [elenfeb77@mail.ru](mailto:elenfeb77@mail.ru)**

**Салина Екатерина Анатольевна**, к.м.н., доц.,  
ФГБОУ ВО «Саратовский государственный ме-  
дицинский университет им. В.И. Разумовского»  
Минздрава России;

**e-mail: [skmp2408@yandex.ru](mailto:skmp2408@yandex.ru)**

**Ekaterina A. Salina**, Cand. Sci. (Med.), Assoc.  
Prof., Saratov State Medical University named after  
V.I. Razumovsky of the Ministry of Health Care of  
Russia;

**e-mail: [skmp2408@yandex.ru](mailto:skmp2408@yandex.ru)**

**Малыгин Александр Юрьевич**, ГБУЗ  
Ярославской области «Клиническая больница  
№ 2»;

**e-mail: [Doc\\_mal@rambler.ru](mailto:Doc_mal@rambler.ru)**

**Alexander Yu. Malygin**, Yaroslavl Clinical  
Hospital No. 2;

**e-mail: [Doc\\_mal@rambler.ru](mailto:Doc_mal@rambler.ru)**

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

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

# 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**  
полнорационные,  
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)



## **Уважаемые коллеги, авторы и читатели журнала «Биомедицина»!**

Третий выпуск журнала традиционно посвящён материалам нашей ежегодной межрегиональной научно-практической конференции «Биомедицина и биомоделирование», проведённой Научным центром биомедицинских технологий ФМБА России 24–25 мая 2023 года. Пленарное заседание и симпозиумы были организованы на трёх площадках: в НЦБМТ ФМБА России (Московская область), на базе СПХФУ Минздрава России (Санкт-Петербург) и РостГМУ Минздрава России (Ростов-на-Дону). В очном и дистанционном режимах с интересом заслушано и обсуждено 47 докладов на актуальные темы медико-биологических исследований. Мы благодарны всем коллегам, принявшим участие в работе конференции.

В этом году материалы конференции в виде кратких сообщений публикуются в двух выпусках журнала — печатном (№ 3) и электронном (№ 3Е). Обе формы имеют ВАКовский статус и цитируются в РИНЦ.

С полной электронной версией печатного выпуска, содержащей работы в оригинальном авторском виде, можно ознакомиться на официальном сайте журнала «Биомедицина» <http://journal.scbmt.ru> и на сайте НЦБМТ ФМБА России <http://scbmt.ru>.

*С уважением,  
директор ФГБУН НЦБМТ ФМБА России  
доктор медицинских наук,  
профессор В.Н. Каркищенко*

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'V.N. Karshchenko'.