

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

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

БИОМЕДИЦИНА

SCIENTIFIC JOURNAL

JOURNAL BIOMED

Том (Vol.) 22
2026

1



Дорогие авторы, рецензенты и читатели!

За 22 года работы журнал «Биомедицина» выпустил 79 номеров, содержащих почти 1300 статей. Более 6500 авторов опубликовали свои научные труды. Журнал отнесён к высшей категории К1 изданий, входящих в Перечень ВАК, и ко второму уровню «Белого списка» научных журналов, его импакт-фактор РИНЦ достигал значения 1,1.

Всё в жизни меняется, становятся иными условия и возможности. Наш журнал больше не будет выпускаться в прежнем формате. Он прекращает свою деятельность по объективным причинам.

Мы работали для Вас, благодарим всех!

Редакция научного журнала «Биомедицина»



КАРКИЩЕНКО В.Н.



ПОМЫТКИН И.А.



АЛИМКИНА О.В.



КАРКИЩЕНКО Н.Н.



ФОКИН Ю.В.



НЕСТЕРОВ М.С.



ОЛЕЙНИКОВА Г.А.



ОГНЕВА Н.С.



МАТВЕЕНКО Е.Л.



БОЛОТСКИХ П.А.



ПЕТРОВА Н.В.



ПЛОТОВА Е.С.



ШУСТОВ Е.Б.



БЕРЗИНА А.Г.



СТАНКОВА Н.В.

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»

БИОМЕДИЦИНА

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2005 г.
4 выпуска в год

2026, Том 22, № 1

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

JOURNAL BIOMED

SCIENTIFIC JOURNAL

Published since 2005.
Quarterly

2026, Vol. 22, No. 1

БИОМЕДИЦИНА

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, д.б.н., 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)
Влахов Витан, д.м.н., проф., акад. Болгарской академии наук и искусств (София, Болгария)
Дубина Михаил Владимирович, д.м.н., акад. РАН (Москва, Россия)
Дыгай Александр Михайлович, д.м.н., проф., акад. РАН (Томск, Россия)
Кит Олег Иванович, д.м.н., проф., акад. РАН (Ростов-на-Дону, Россия)
Коваленко Леонид Владимирович, д.х.н., проф. (Москва, Россия)
Кузнецов Александр Евгеньевич, д.т.н., проф. (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)
Николенко Владимир Николаевич, д.м.н., проф. (Москва, 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)
Сычёв Дмитрий Алексеевич, д.м.н., проф., акад. РАН (Москва, Россия)
Тропская Наталия Сергеевна, д.б.н., проф. (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

История издания журнала:	Журнал издается с 2005 г.
Периодичность:	4 выпуска в год
Префикс DOI:	10.33647
ISSN	2074-5982 (Print) 2713-0428 (Online)
Свидетельство о регистрации СМИ:	Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати. Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС77-21324 от 09.06.2005
Индексация:	Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук
Подписной индекс:	57995 в объединенном каталоге «Пресса России»
Стоимость одного выпуска:	400 руб.
Условия распространения материалов:	Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License
Учредитель:	ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» 143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, влд. 1
Издатель:	ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» 143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, влд. 1
Редакция:	143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, влд. 1 Тел.: +7 (495) 561-52-64 E-mail: info@scbmt.ru , scbmt@yandex.ru
Тираж:	3000 экземпляров
Типография:	ООО «МЕДИАКОЛОП» 127273, Москва, Сигнальный пр-д, 19, стр. 1
Дата выхода в свет:	30.04.2026

JOURNAL BIOMED

Biomeditsina

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, Dr. Sci. (Biol.), 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)

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

Mikhail V. Dubina, Dr. Sci. (Med.), Acad. of the RAS (Moscow, Russia)

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

Aleksandr E. Kuznetsov, Dr. Sci. (Tech.), Prof. (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)

Vladimir N. Nikolenko, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, 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)

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

Nataliya S. Tropskaya, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Moscow, Russia)

Liliya V. Fedulova, Dr. Sci. (Tech.), Prof. of the RAS (Moscow, Russia)

Dmitriy F. Khritinin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. 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

Biomeditsina

Founded:	The journal has been published since 2005.
Frequency:	Quarterly
DOI Prefix:	10.33647
ISSN	2074-5982 (Print) 2713-0428 (Online)
Mass media registration certificate:	Registered at the State Committee of the Russian Federation on Press under the number ПИ № ФС77-21324 of 09.06.2005
Indexing:	The Journal is included into the Higher Attestation Commission (HAC) list of periodicals (the list of leading per-reviewed scientific journals recommended for publishing the basic research results of doctor and candidate theses)
Subscription index:	57995 in the combined catalogue "Pressa Rossii"
Price:	400 RUR
Content distribution terms:	Content is distributed under Creative Commons Attribution 4.0 License
Founders:	Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia 143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye gory Village, 1
Publisher:	Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia 143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye gory Village, 1
Editorial office:	143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye gory Village, 1 Tel.: +7 (495) 561-52-64 E-mail: info@scbmt.ru , scbmt@yandex.ru
Circulation:	3000 copies
Printing house:	MediaColor LLC 127273, Russian Federation, Moscow, Signalny proezd, 19
Publication date:	30.04.2026

■ МЕТОДЫ И ТЕХНОЛОГИИ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Н.С. Огнева, М.С. Нестеров, Ю.В. Фокин, Д.В. Хвостов,
А.И. Левашова, В.Н. Каркищенко**

Мультитаргетное противовоспалительное действие опиоидного пептида Лейтрагин 10

**И.А. Помыткин, Н.С. Огнева, Н.В. Петрова, Ю.В. Фокин, О.В. Алимкина,
В.Н. Каркищенко, А.С. Огнева**

Эффекты гептапептида [D-Ala²]-динорфин(1-7)амида на транскрипцию
сиртуинов в условиях острого воспаления в легких у мышей C57BL/6Y 15

■ ГЕНЕТИКА И ЭПИГЕНЕТИКА ЖИВОТНЫХ-БИОМОДЕЛЕЙ

Н.В. Петрова, Н.Н. Каркищенко, Р.А. Клёсов

Эффективная фармакогенетическая модель анализа
N-ацетилаторных процессов токсикантов класса гидразинов 25

**Н.В. Петрова, Н.Н. Каркищенко, И.А. Помыткин, В.В. Слободенюк,
С.Б. Курашев, М.А. Савина**

Фармакологический анализ механизмов действия и коррекции токсических эффектов
изониазида на гуманизированных трансгенных мышах NAT2 38

**М.М. Руденюк, М.Г. Ратушняк, Е.И. Семенова, И.Н. Рыболовлев, С.А. Партевян,
М.В. Лукашевич, Д.А. Шапошникова, М.С. Нестеров, Д.А. Абаимов, П.А. Сломинский,
М.И. Шадрина, А.Х. Алиева**

Влияние введения мезенхимальных и нейральных экзосом на двигательную активность
и метаболизм дофамина у мышей с моделью болезни Паркинсона,
индуцированной 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином 48

■ РЕЛЕВАНТНОЕ И АЛЬТЕРНАТИВНОЕ БИОМОДЕЛИРОВАНИЕ

Н.Н. Каркищенко, Д.Б. Чайванов, Ю.Ю. Клосс

Расчётно-теоретический анализ размытия потенциала при транскраниальной
микрополяризации двумя близко расположенными электродами стандартной формы 60

Н.Н. Каркищенко, Д.Б. Чайванов, Ю.А. Чудина, Ю.Ю. Клосс

Электрооптический метод анализа уровня самоконтроля 65

■ БИОТЕХНОЛОГИИ В БИОМЕДИЦИНЕ

**Anna D. Beliaeva, Galina G. Nianikova, Alfiia R. Sakhipova,
Irina D. Beliaeva, Olga Iu. Kharkova**

Effect of Chitosan on the Activity of Antimicrobial Agents *in vitro* 70

■ ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОМЕДИЦИНЕ

**Н.Е. Гаевская, В.В. Евдокимова, Л.П. Алексеева, О.А. Якушева, И.А. Иванова,
А.В. Тюрина, М.П. Погожова, М.В. Овчинникова, А.В. Комиссаров, Е.А. Глазкова,
К.С. Гумаюнова, А.К. Никифоров**

Оценка безопасности экспериментального лечебно-профилактического препарата против холеры на модели культуры клеток 84

Р.В. Журиков, Л.Ф. Зайнуллина, Л.П. Коваленко, Л.Г. Колик, В.Л. Дорофеев

Механизм противовоспалительного действия производного 5-оксипиримидина СНК-578 (2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин гидрохлорида) 99

И.А. Мирошкина, И.В. Алексеев, А.В. Сорокина, С.В. Алексеева,

И.Б. Цорин, Л.Г. Колик, А.Д. Дурнев

Влияние доксорубина на пространственную память и микроскопическую картину префронтальной коры и гиппокампа у крыс 105

М.А. Шабалин, З.В. Туктарова, П.А. Попова, О.В. Красникова, А.В. Дерюгина

Влияние пчелиного яда и гипертермии на процессы липопероксидации и активность супероксиддисмутазы в печени животных-опухоленосителей 118

■ METHODS AND TECHNOLOGIES OF BIOMEDICAL RESEARCH

Nastasya S. Ogneva, Maxim S. Nesterov, Yuriy V. Fokin, Daniil V. Khvostov, Anna I. Levashova, Vladislav N. Karkischenko

Multitarget Anti-Inflammatory Action of the Opioid Peptide Leytragin 10

Igor A. Pomytkin, Nastasya S. Ogneva, Nataliya V. Petrova, Yuriy V. Fokin, Oksana V. Alimkina, Vladislav N. Karkischenko, Aksin`ya S. Ogneva

Effects of [D-ALA²]-Dynorphin(1-7)Amide Heptapeptide on Sirtuin Transcription in Mouse Model of Acute Lung Inflammation 15

■ GENETICS AND EPIGENETICS OF ANIMAL BIOMODELS

Natalia V. Petrova, Nikolay N. Karkischenko, Roman A. Klesov

Effective Pharmacogenetic Model for Analyzing N-Acetylation of Hydrazine-Class Toxicants . . . 25

Natalia V. Petrova, Nikolay N. Karkischenko, Igor A. Pomytkin, Vladimir V. Slobodenyuk, Sergej B. Kurashev, Mariya A. Savina

Pharmacological Analysis of the Mechanisms of Action and Correction of Isoniazid-induced Toxicity in NAT2-humanized Transgenic Mice 38

Margarita M. Rudenok, Marya G. Ratushnyak, Ekaterina I. Semenova, Ivan N. Rybolovlev, Suzanna A. Partevian, Maria V. Lukashevich, Daria A. Shaposhnikova, Maxim S. Nesterov, Denis A. Abaimov, Petr A. Slominsky, Maria I. Shadrina, Anelya Kh. Alieva

Effects of Mesenchymal and Neural Exosome Administration on Motor Activity and Dopamine Metabolism in a Mouse Model of 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine-Induced Parkinson's disease 48

■ RELEVANT AND ALTERNATIVE BIOMODELING

Nikolay N. Karkischenko, Dmitry B. Chaivanov, Yury Yu. Kloss

Computational and Theoretical Analysis of Potential Blurring in Transcranial Direct Current Stimulation with Two Closely Spaced Standard-Shaped Electrodes 60

Nikolay N. Karkischenko, Dmitry B. Chaivanov, Yulia A. Chudina, Yury Yu. Kloss

Electro-Optical Method for Evaluating the Level of Self-Regulation 65

■ BIOTECHNOLOGIES IN BIOMEDICINE

А.Д. Беляева, Г.Г. Няникова, А.Р. Сахипова, И.Д. Беляева, О.Ю. Харькова

Влияние хитозана и энтеросорбентов на активность противомикробных препаратов *in vitro* 70

■ NON-CLINICAL RESEARCH IN BIOMEDICINE

- Natalia E. Gaevskaya, Veronica V. Evdokimova, Ludmila P. Alekseeva,
Olga A. Yakusheva, Inna A. Ivanova, Anna V. Tyurina, Marina P. Pogozhova,
Maria V. Ovchinnikova, Alexander V. Komissarov, Ekaterina A. Glazkova,
Kristina S. Gumayunova, Aleksey K. Nikiforov**
Safety Assessment of an Experimental Therapeutic
and Prophylactic Anti-Cholera Agent in a Cell Culture Model 84
- Ruslan V. Zhurikov, Liana F. Zainullina, Larisa P. Kovalenko,
Larisa G. Kolik, Vladimir L. Dorofeev**
Mechanism Behind Anti-Inflammatory Effect of 5-Oxypyrimidine Derivative
SNK-578 (2-Isobutyl-4,6-Dimethyl-5-Oxypyrimidine Hydrochloride) 99
- Irina A. Miroshkina, Ivan V. Alekseev, Alexandra V. Sorokina, Svetlana V. Alekseeva,
Iosif B. Tsorin, Larisa G. Kolik, Andrey D. Durnev**
Effect of Doxorubicin on Spatial Memory and Microscopic Morphology
of Prefrontal Cortex and Hippocampus in Rats 105
- Mikhail A. Shabalin, Zulfiya V. Tuktarova, Pauline A. Popova,
Olga V. Krasnikova, Anna V. Deryugina**
Effect of Bee Venom and Hyperthermia on Hepatic Lipid Peroxidation
and Superoxide Dismutase Activity in Tumor-Bearing Animals 118

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-10-14>



МУЛЬТИТАРГЕТНОЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ОПИОИДНОГО ПЕПТИДА ЛЕЙТРАГИН

Н.С. Огнева*, М.С. Нестеров, Ю.В. Фокин, Д.В. Хвостов,
А.И. Левашова, В.Н. Каркищенко

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

В настоящей работе впервые показано, что Лейтрагин обладает способностью снижать экспрессию белков сразу нескольких провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6 и TNF- α в фазе разрешения воспаления, что свидетельствует о его мультитаргетном антицитокиновом действии.

Ключевые слова: SIRT1, IL-1 β , IL-6, TNF- α , Лейтрагин

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН НЦБМТ ФМБА России по теме «Экспрессия сиртуинов как биомаркер в оценке функциональных состояний лабораторных животных» (шифр: «СИРТ-2024»).

Для цитирования: Огнева Н.С., Нестеров М.С., Фокин Ю.В., Хвостов Д.В., Левашова А.И., Каркищенко В.Н. Мультитаргетное противовоспалительное действие опиоидного пептида Лейтрагин. *Биомедицина*. 2026;22(1):10–14. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-10-14>

Поступила 24.11.2025

Принята после доработки 08.12.2025

Опубликована 30.04.2026

MULTITARGET ANTI-INFLAMMATORY ACTION OF THE OPIOID PEPTIDE LEYTRAGIN

Nastasya S. Ogneva*, Maxim S. Nesterov, Yuriy V. Fokin, Daniil V. Khvostov,
Anna I. Levashova, Vladislav 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

This study is the first to demonstrate that Leytragin reduces the protein expression of several pro-inflammatory cytokines—IL-1 β , IL-6, and TNF- α —during the resolution phase of inflammation, indicating its multitarget anti-cytokine action.

Keywords: SIRT1, IL-1 β , IL-6, TNF- α , Leytragin

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

Funding: the study was conducted as part of the state assignment of the Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia under the project “Sirtuin expression as a biomarker in assessing the functional states of laboratory animals” (code: SIRT-2024).

For citation: Ogneva N.S., Nesterov M.S., Fokin Yu.V., Khvostov D.V., Levashova A.I., Karkischenko V.N. Multitarget Anti-Inflammatory Action of the Opioid Peptide Leytragin. *Journal Biomed.* 2026;22(1):10–14. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-10-14>

Submitted 24.11.2025
Revised 08.12.2025
Published 30.04.2026

Введение

Ранее мы показали, что моделирование острого воспаления легких у мышей линии C57BL/6Y *in vivo* однократным интратрахеальным введением липополисахарида (LPS) вызывает синхронные осцилляции в ткани легкого мРНК провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли- α (TNF- α), интерлейкин-1 β (IL-1 β) и интерлейкин-6 (IL-6), а также НАД-зависимой гистоновой деацетилазы III класса сиртуина 1 (SIRT1), причем осцилляции мРНК цитокинов затухали раньше, чем осцилляции мРНК SIRT1 [1], что в целом соответствует известной гипотезе, согласно которой экспрессия SIRT1 при воспалении играет роль отрицательной обратной связи, ограничивающей воспаление, где NF- κ B действует как положительный регулятор транскрипции гена *SIRT1*, а экспрессируемый SIRT1 выполняет роль отрицательного регулятора активности NF- κ B [2]. В целом имеющиеся данные указывают на ключевую роль SIRT1 при разрешении воспаления. Мы также показали, что гексапептид Лейтрагин при ингаляционном введении показывает противовоспалительное действие, вызывая дополнительную опережающую индукцию мРНК SIRT1 и снижая амплитуду осцилляций мРНК противовоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6 и TNF- α [1].

Цель работы — подтвердить эффекты Лейтрагина как противовоспалительного средства на уровне экспрессии белков провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6 и TNF- α в фазе разрешения воспаления на модели острого воспаления легких у мышей линии C57BL/6Y, индуцируемой однократным интратрахеальным введением LPS.

Материалы и методы

Расходные материалы

α -GalCer и LPS (*E. coli* 055:B5) были приобретены в “Sigma-Aldrich” (“Merck”, США). Гексапептид Лейтрагин (H-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg-OH диацетат) был приобретен в ООО «Бιον» (Обнинск, Россия). Золетил, ксила и антиседан были получены от “Virbac” (Франция), “Interchemie” (Нидерланды) и “OrionPharma” (Финляндия). Цитокины определяли на мультиплексном ридере Bio-Plex® MAGPIX™ Multiplex Reader (“Bio-Rad”, SN: 12250707) с использованием коммерчески доступной панели (Bio-Plex Pro™ Mouse Cytokine Th17 Panel A 6-Plex #M6000007NY). Все остальные реагенты были приобретены в “Sigma-Aldrich” (“Merck”, США).

Лабораторные животные

Исследования проводились в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России на мышах линии C57BL/6Y, самцах в возрасте 10–12 недель, 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 6 особей в группе. Животные соответствовали категории улучшенных конвенциональных. В качестве рациона 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°C, относительной влажности 60–70% и искусственном освещении с циклом 12/12.

Исследования проводились в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета о защите животных, используемых в научных целях от 22.09.2010; Базельской декларацией (2011); Федеральным законом от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»; ГОСТ 53434-2009 от 02.12.2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)»; Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза»; Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств»; Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов». Все эксперименты были одобрены биоэтической комиссией ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

Модель остро́го воспаления легких

Острое воспаление легких и ОРДС моделировали как описано в предыдущей работе [1].

Группы животных и введение препаратов

Животные были рандомизированы в две группы по 18 животных в каждой. В контрольной группе животные через 30 мин после инъекции LPS получили 100 мкл физ. р-ра однократной ингаляцией. Во второй группе животные получили 0,1 мг/кг Лейтрагина в виде 100 мкл р-ра с концентрацией 0,02 мкг/мл. По шесть животных из каждой группы выводилось из эксперимента в следующих временных точках: 18, 48 и 72 ч после введения физ. р-ра или Лейтрагина. Животные подверга-

лись эвтаназии методом дислокации шейных позвонков. Уровни цитокинов определяли в бронхолегочном лаваже.

Выделение биоматериала и измерение цитокинов

Легкие извлекали и гомогенизировали с использованием прибора для автоматической гомогенизации клеток и тканей MagNa Lyser (“Roche”, Швейцария). Уровни цитокинов определяли в водном экстракте лёгочной ткани. Измерения проводились на мультиплексном ридере Bio-Plex®MAGPIX™ Multiplex Reader (“Bio-Rad”, США, SN: 12250707) с использованием стандартной коммерчески доступной панели (Bio-Plex Pro™ Mouse Cytokine Th17 Panel A 6-Plex #M6000007NY). Экстракт лёгочной ткани, стабилизированный этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА), вносили в лунки планшета. Дальнейшие операции выполняли в соответствии с протоколом производителя. Анализ полученных данных и сравнение содержания исследованных цитокинов в разных группах проводилось в программе BioPlex Data Pro (версия 1.0.0.06) фирмы “Bio-Rad” (США).

Статистический анализ

Статистический анализ проводили с помощью двухфакторного дисперсионного анализа (two-way ANOVA). Следующие обозначения были использованы: M — среднее, m — стандартная ошибка, n — объем выборки, p — достигнутый уровень значимости. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Профили экспрессии провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF- α и IL-6 после индукции острого воспаления легких и однократного ингаляционного введения физ. р-ра (Физ.рр) или Лейтрагина показаны на рисунке.

Двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA) выявил статистически значимые отличия в уровнях TNF- α

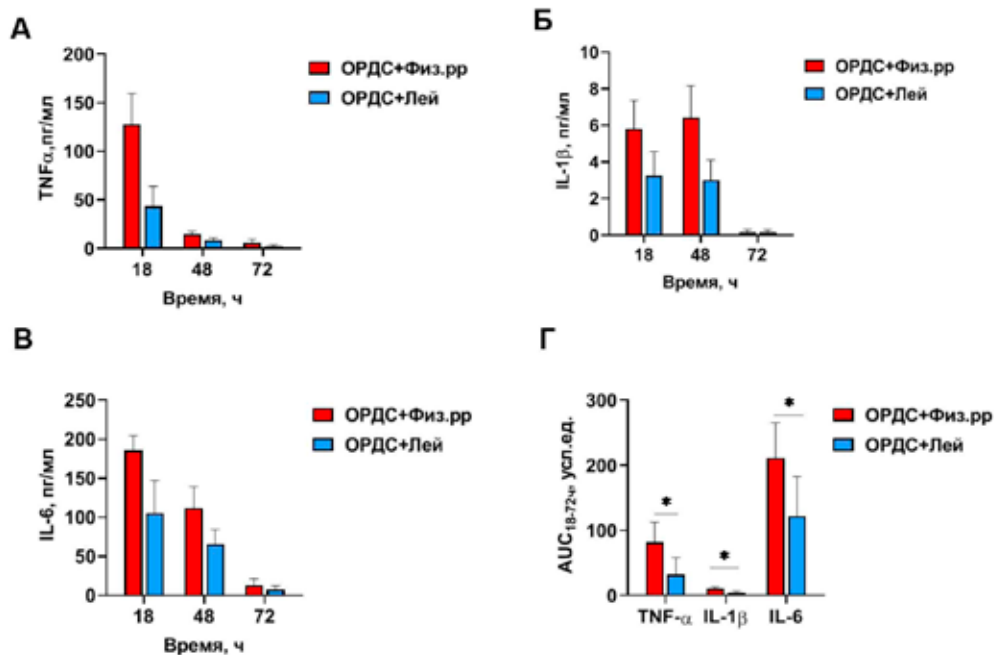


Рис. Профили экспрессии белков цитокинов TNF-α (А), IL-1β (Б), IL-6 (В), а также площади под кривыми (AUC) экспрессии белков цитокинов в бронхолегочном лаваже (Г) мышей линии C57BL/6Y в интервале 18–72 ч после индукции острого воспаления легких. * — $p < 0,05$.

Fig. Expression profiles of cytokine proteins TNF-α (A), IL-1β (B), and IL-6 (B), and the area under the curve (AUC) for cytokine protein expression in the bronchoalveolar lavage fluid (Г) of C57BL/6Y mice between 18 and 72 h after the induction of acute lung inflammation. * — $p < 0.05$.

в бронхолегочном лаваже между группами животных с индуцированным острым воспалением легких в периоде разрешения воспаления 18–72 ч, получивших физ. р-р (контроль) или Лейтрагин (рис. А; $F_{1,29}=7,441$; $p=0,0107$), а также в уровнях IL-1β (рис. Б; $F_{1,30}=4,246$; $p=0,0481$) и уровнях IL-6 (рис. В; $F_{1,30}=5,293$; $p=0,0285$). Из сравнения площадей под кривыми уровней цитокинов в интервале 18–72 ч после индукции воспаления (рис. Г), соответствующих стадии разрешения воспаления, следует, что Лейтрагин статистически значимо снижает уровни провоспалительных

цитокинов у животных с острым воспалением легких в фазе разрешения воспаления, что полностью соответствует эффектам Лейтрагина на транскрипцию генов этих же провоспалительных цитокинов [1].

Закключение

В настоящей работе впервые показано, что Лейтрагин обладает способностью снижать экспрессию белков сразу нескольких провоспалительных цитокинов (IL-1β, IL-6 и TNF-α) в фазе разрешения воспаления, что свидетельствует о его мультитаргетном антицитокиновом действии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Помыткин И.А., Огнева Н.С., Фокин Ю.В., Петрова Н.В., Алимкина О.В., Каркищенко В.Н. Эпигенетические механизмы противовоспалительного действия опиоидного пептида Лейтрагин: роль сиртуина 1. *Биомедицина*. 2024;20(3):10–20. [Pomytkin I.A., Ogneva N.S., Fokin Yu.V., Petrova N.V., Alimkina O.V., Karkischenko V.N. Epigeneticheskie mehanizmi protivovospalitel'nogo deystviya opioidnogo peptida Lejtragin: rol sirtuina 1. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2024;20(3):10–20. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-20-3-10-20.
2. Kauppinen A., Suuronen T., Ojala J., Kaarniranta K., Salminen A. Antagonistic crosstalk between NF-κB and SIRT1 in the regulation of inflammation and metabolic disorders. *Cell Signal*. 2013;25(10):1939–1948. DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.06.007.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

e-mail: ognevanastya@mail.ru

Nastasya S. Ogneva*, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: ognevanastya@mail.ru

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

e-mail: mdulya@gmail.com

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

e-mail: mdulya@gmail.com

Фокин Юрий Владимирович, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

e-mail: fokin@scbmt.ru

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

e-mail: fokin@scbmt.ru

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

e-mail: daniil_hvostov@mail.ru

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

Левашова Анна Игоревна, к.х.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

e-mail: annalevashova3@gmail.com

Anna I. Levashova, Cand. Sci. (Chem.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: annalevashova3@gmail.com

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

e-mail: scbmt@yandex.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

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-15-24>



ЭФФЕКТЫ ГЕПТАПЕПТИДА [D-Ala²]-ДИНОРФИН(1-7)АМИДА НА ТРАНСКРИПЦИЮ СИРТУИНОВ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ВОСПАЛЕНИЯ В ЛЕГКИХ У МЫШЕЙ C57BL/6Y

И.А. Помыткин, Н.С. Огнева*, Н.В. Петрова, Ю.В. Фокин, О.В. Алимкина,
В.Н. Каркищенко, А.С. Огнева

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

[D-Ala²]-динорфин(1-7)амид — синтетический опиоидный гептапептид H-YdAGFLRR-NH₂, структурный аналог природного динорфина(1-7), обладающего высокой противовоспалительной активностью в пиколярном интервале концентраций, но низкой стабильностью и коротким временем жизни в биологических средах. Сиртуины — НАД-зависимые гистоновые деацетилазы III класса, представленные у млекопитающих семью изоформами, отличающимися субстратной селективностью и внутриклеточной локализацией. Ядерные сиртуины 1 (SIRT1) и 6 (SIRT6) играют ключевую роль в разрешении воспаления, деацетилируя компоненты провоспалительных сигнальных путей. Цель настоящей работы заключалась в изучении эффектов ингаляционного гептапептида [D-Ala²]-динорфин(1-7)амида на транскрипцию всех семи изоформ сиртуина в легких мышей C57BL/6Y в условиях моделирования острого воспаления легких и ОРДС. В работе впервые показано, что ингаляционное введение указанного гептапептида статистически значимо повышает как транскрипцию мажорных сиртуинов SIRT1 и SIRT6, так и минорных сиртуинов SIRT2, SIRT5, SIRT7 в легких в условиях воспаления. Таким образом, настоящая работа уточняет механизм противовоспалительного действия [D-Ala²]-динорфин(1-7)амида, который заключается преимущественно в повышении транскрипции ядерных SIRT1 и SIRT6, известных отрицательных регуляторов воспаления.

Ключевые слова: [D-Ala²]-динорфин(1-7)амид, динорфин, сиртуины, острое воспаление легких, мыши C57BL/6Y

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН НЦБМТ ФМБА России по теме «Экспрессия сиртуинов как биомаркер в оценке функциональных состояний лабораторных животных» (шифр: «СИРТ-2024»).

Для цитирования: Помыткин И.А., Огнева Н.С., Петрова Н.В., Фокин Ю.В., Алимкина О.В., Каркищенко В.Н., Огнева А.С. Эффекты гептапептида [D-Ala²]-динорфин(1-7)амида на транскрипцию сиртуинов в условиях острого воспаления в легких у мышей C57BL/6Y. *Биомедицина*. 2026;22(1):15–24.

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-15-24>

Поступила 12.01.2026

Принята после доработки 20.01.2026

Опубликована 30.04.2026

EFFECTS OF [D-Ala²]-DYNORPHIN(1-7)AMIDE ON SIRTUIN TRANSCRIPTION IN A MOUSE MODEL OF ACUTE LUNG INFLAMMATION

Igor A. Pomytkin, Nastasya S. Ogneva*, Nataliya V. Petrova, Yuriy V. Fokin,
Oksana V. Alimkina, Vladislav N. Karkischenko, Aksin`ya S. Ogneva

*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*

[D-Ala²]-dynorphin(1-7)amide is a synthetic opioid heptapeptide (H-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-NH₂) and a structural analog of natural dynorphin(1-7). While natural dynorphin(1-7) exhibits potent anti-inflammatory activity in the picomolar concentration range, its application is limited by low stability and a short half-life in biological media. Sirtuins are NAD-dependent class III histone deacetylases, represented in mammals by seven isoforms with distinct substrate selectivity and intracellular localization. Nuclear sirtuins 1 (SIRT1) and 6 (SIRT6) play a key role in the resolution of inflammation by deacetylating components of pro-inflammatory signaling pathways. This study aimed to evaluate the effects of inhaled [D-Ala²]-dynorphin(1-7)amide on the transcription of all seven sirtuin isoforms in the lungs of C57BL/6Y mice during simulated acute lung inflammation and acute respiratory distress syndrome. This study is the first to demonstrate that inhalation of the specified heptapeptide significantly increases the transcription of major sirtuins (SIRT1, SIRT6), as well as SIRT2, SIRT5, and SIRT7, in inflamed lungs. Thus, the findings clarify the anti-inflammatory mechanism of [D-Ala²]-dynorphin(1-7)amide, which primarily involves enhancing the transcription of nuclear SIRT1 and SIRT6, established negative regulators of inflammation.

Keywords: [D-Ala²]-dynorphin(1-7)amide, dynorphin, sirtuins, acute lung inflammation, C57BL/6Y mice

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

Funding: the study was conducted as part of the state assignment of the Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia under the project “Sirtuin expression as a biomarker in assessing the functional states of laboratory animals” (code: SIRT-2024).

For citation: Pomytkin I.A., Ogneva N.S., Petrova N.V., Fokin Yu.V., Alimkina O.V., Karkischenko V.N., Ogneva A.S. Effects of [D-ALA2]-Dynorphin(1-7)Amide Heptapeptide on Sirtuin Transcription in Mouse Model of Acute Lung Inflammation. *Journal Biomed.* 2026;22(1):15–24. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-15-24>

Submitted 12.01.2026

Revised 20.01.2026

Published 30.04.2026

Введение

Опиоидный гептадекапептид динорфин YGGFLRRIRPKLKWDNQ был впервые выделен в 1979 г. из гипофиза свиней [8, 9]. Свое название он получил из-за чрезвычайно высокой биологической активности — от греч. δύναμις, что переводится как «сила» [8, 9]. Динорфин высвобождается в мозге в ответ на стресс и запускает такие реакции, как анальгезия, дисфория и тревога [6]. Кроме того, он может секретироваться иммунными клетками в ответ на воспаление [10]. В зоне воспаления динорфин подвергается быстрой фрагментации под действием пептидаз с образованием короткоживущих N-терминальных фрагментов длиной от 6 до 11 аминокислот, в т.ч. фрагментов (1-6) YGGFLR и (1-7) YGGFLRR, обладающих противовоспалительным действием [7, 13, 14].

Возможность применения фрагментов динорфина в качестве противовоспалительных лекарственных средств, однако, ограничена из-за низкой стабильности этих пептидов в биологических средах. Для решения этой проблемы в 80-х гг. XX века во Всесоюзном кардиологическом научном центре АМН СССР был разработан относительно более стабильный синтетический аналог динорфина(1-6) — гексапептид [D-Ala²]-динорфин(1-6) YdAGFLR, в котором остаток Gly во втором положении был замещен на остаток D-Ala. [D-Ala²]-динорфин(1-6) был первым опиоидным пептидом, введенным в практику здравоохранения в мире, и имеет длительную историю применения в гастроэнтерологии в России в форме инъекций под общим названием «даларгин» для лечения язвы желудка и острого

панкреатита [1]. Ингаляционная лекарственная форма [D-Ala²]-динорфина(1-6) была зарегистрирована значительно позже и под названием «Лейтрагин» применяется как средство для лечения коронавирусной инфекции COVID-19 [2, 3]. Механизм противовоспалительного действия [D-Ala²]-динорфина(1-6) был открыт сотрудниками ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, которые обнаружили, что этот пептид в условиях воспаления активирует транскрипцию сиртуина 1 (SIRT1) [18], одного из семи представителей семейства гистоновых деацетилаз III класса (SIRT1-SIRT7) млекопитающих, играющего ключевую роль в разрешении воспаления [19]. Помимо SIRT1, как недавно было обнаружено, [D-Ala²]-динорфин(1-6) активирует транскрипцию SIRT6 [5], роль которого в разрешении воспаления также известна [11]. В целом известный к настоящему моменту механизм противовоспалительного действия гексапептида [D-Ala²]-динорфин(1-6) включает активацию транскрипции SIRT1 и SIRT6, которые, в свою очередь, деацетилируют субстраты, участвующие в воспалительном ответе, включая транскрипционные факторы и гистоны.

Наибольшую противовоспалительную активность из всех коротких N-терминальных фрагментов динорфина проявляет фрагмент (1-7) YGGFLRR, который уже в концентрации 10 пМ ингибирует транслокацию в ядро транскрипционного фактора каппа В/p65 (NF-κB/p65) и продукцию провоспалительных цитокинов интерлейкина-1бета (IL-1β) и фактора некроза опухоли-альфа (TNF-α) [7]. Учитывая высокую биологическую активность динорфина (1-7), последний послужил прототипом для синтеза стабилизированного гептапептида [D-Ala²]-динорфин(1-7) амида (сокращенно «р7»), имеющего последовательность H-YdAGFLRR-NH₂ [4].

Цель работы — изучить влияние ингаляционного гептапептида р7 на транс-

крипцию всех семи известных изоформ сиртуина млекопитающих в легких мышей линии C57BL/6Y в условиях моделирования острого воспаления легких и острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС).

Материалы и методы

Расходные материалы

α-галактозилцерамид (α-GalCer) и липополисахарид (LPS) (*E. coli* 055:B5) были приобретены в “Sigma-Aldrich” (“Merck”, США). Гептапептид р7 (H-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-NH₂) был синтезирован в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Набор РНК-экстран для извлечения РНК был приобретён в ООО «Синтол» (Россия). Набор РЕВЕРТА-L для синтеза кДНК был получен от ООО «АмплиСенс» (Россия). Золетил 100, седамидин и антиседан были получены от “Virbac” (Франция), “Interchemie” (Нидерланды) и “Orion Pharma” (Финляндия). Все остальные реагенты были приобретены в “Sigma-Aldrich” (“Merck”, США).

Лабораторные животные

Исследования проводились в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России на мышках линии C57BL/6Y, самцах в возрасте 10–12 недель, средней массой 20±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 6 особей в группе. Животные соответствовали категории улучшенных конвенциональных. В качестве рациона 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°C, относительной влажности 60–70% и искусственном освещении с циклом 12/12.

Исследования проводились в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета о защите животных, используемых в научных целях от 22.09.2010; Базельской декларацией (2011); Федеральным законом от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»; ГОСТ 53434-2009 от 02.12.2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)»; Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза»; Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств»; Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов». Все эксперименты были одобрены биоэтической комиссией ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

Модель острого воспаления лёгких

Животным моделировали острое воспаление легких и ОРДС последовательным введением α -GalCer, ингаляционно в дозе 1 мкг/мышь, и через 24 ч — 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 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.

Группы животных и введение препаратов

Животные были рандомизированы в две группы по 6 особей в каждой. В контрольной группе животные через 30 мин после инъекции LPS получили 100 мкл физ. р-ра однократной ингаляцией. Во второй группе животные получили 0,1 мг/кг гептапептида p7 в виде 100 мкл р-ра с концентрацией 0,02 мкг/мл. Через 30 мин после введения гептапептида p7 или физ. р-ра животные были выведены из эксперимента. Образцы ткани легких, извлеченные после эвтаназии животных, помещались в пробирку типа Eppendorf объёмом 2 мл.

ПЦР в реальном времени

Общую РНК экстрагировали из образцов лёгких с помощью набора «РНК-экстран» («Синтол», Россия) и переводили в комплементарную ДНК с помощью набора «РЕВЕРТА-Л» («АмплиСенс», Россия) в соответствии с инструкциями производителей. Уровни транскрипции генов, кодирующих белки SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 и SIRT7, в исследуемых пробах определяли с помощью амплификатора CFX-96 («Bio-Rad», США) с использованием специфических праймеров и флуоресцентных зондов, указанных в таблице.

В качестве референсного гена был выбран ген *GAPDH*. Результаты измерений представляли как кратное изменение уровня мРНК целевого гена через 30 мин после введения препаратов (n=6) относительно соответствующего значения у интактных животных.

Статистический анализ

Критерий Шапиро—Уилка применяли для выбора параметрических или непараметрических методов статистического анализа. Статистический анализ проводили с помощью двустороннего U-теста Манна—Уитни с использованием программного

Таблица. Олигонуклеотидные праймеры и зонды

Table. Oligonucleotide primers and PCR probes

Ген	Праймер / зонд	Нуклеотидная последовательность
<i>SIRT1 mus</i>	F R Z	5'- TCCTTGGAGACTGCGATGTT-3' 5'- ATGAAGAGGTGTTGGTGGCA-3' ROX - TGAGTTGTGTCATAGGCTAGGTGGT-BHQ2
<i>SIRT2 mus</i>	F R Z	5'- GGCTCAGGATTCAGACTCGG-3' 5'- CTCCCACCAACAGATGACC-3' ROX - GTGGAGAGGCAGAGATGGACTTCCT-BHQ2
<i>SIRT3 mus</i>	F R Z	5'- TATGGGCTGATGTGATGGCG-3' 5'- GAGGACTCAGAACGAACGGC-3' ROX - TACTGGCGTTGTGAAACCCGACATT-BHQ2
<i>SIRT4 mus</i>	F R Z	5'- GCACTCTGATGTCCAAAGGC-3' 5'- TTACCAGAAGCGACACAGC-3' ROX - CAATGCCGCTCCAACCTGAATCCT-BHQ2
<i>SIRT5 mus</i>	F R Z	5'- CGAACGCCAAGCACATAGCC-3' 5'- GGTGGGTTCTTTGCTCCGC-3' ROX - CGCTGGAGGTTACTGGAGAAAATGG-BHQ2
<i>SIRT6 mus</i>	F R Z	5'-TGGACTGGGAGGACTCGTTG-3 5'- GTTGACAATGACCAGACGGC-3 ROX - CGGGACCTGATGCTCGCTGATGAGG-BHQ2
<i>SIRT7 mus</i>	F R Z	5'- CAGGAGGAGGTGTGTGATGA-3 5'- CTTAGGTCGGCAGCACTCAC-3 ROX - AGGCACTTGGTTGTCTACACGGGCG-BHQ2

обеспечения GraphPad Prism v.8.3.0 (США). Были использованы следующие обозначения: М — среднее, m — стандартная ошибка, n — объём выборки, p — достигнутый уровень значимости. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследований

ПЦР-анализ в реальном времени показывает, что транскриптом сиртуинов в легких мышей линии C57BL/6Y, индуцированных α -GalCer/LPS, представлен в основном двумя ядерными сиртуинами: SIRT1 и SIRT6,

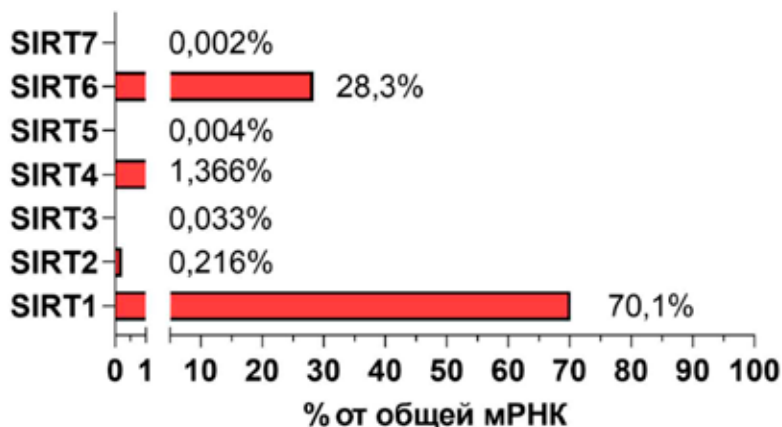


Рис. 1. Среднее содержание мРНК сиртуинов SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 и SIRT7 в легких мышей C57BL/6Y (n=6), индуцированных α -GalCer/LPS, по данным анализа ПЦР в реальном времени. Общее содержание мРНК семи сиртуинов принято за 100%.

Fig. 1. Mean mRNA levels of SIRT1–7 in the lungs of α -GalCer/LPS-challenged C57BL/6Y mice (n=6), as determined by real-time PCR analysis. The total mRNA content of the seven sirtuins is expressed as 100%.

на долю которых приходится 98,4% от всего от общего содержания мРНК всех семи известных изоформ сиртуинов млекопитающих (рис. 1).

Ингаляционное введение гептапептида р7 мышам линии C57BL/6Y с острым воспалением легких, вызванным интратрахеальным введением α -GalCer/LPS, вызывает статистически значимое повышение в лег-

ких уровнях мРНК SIRT1 в 9,1 раза ($p < 0,01$; рис. 2Б), мРНК SIRT2 — в 6,1 раза ($p < 0,01$; рис. 2В), мРНК SIRT5 — в 4,2 раза ($p < 0,01$; рис. 2Е), мРНК SIRT6 — в 3,6 раза ($p < 0,05$; рис. 2Ж) и мРНК SIRT7 — в 3,2 раза ($p < 0,01$; рис. 2З) по сравнению с соответствующими уровнями мРНК у контрольных животных, получавших ингаляционно физ. р-р. При этом гептапептид р7 не влиял

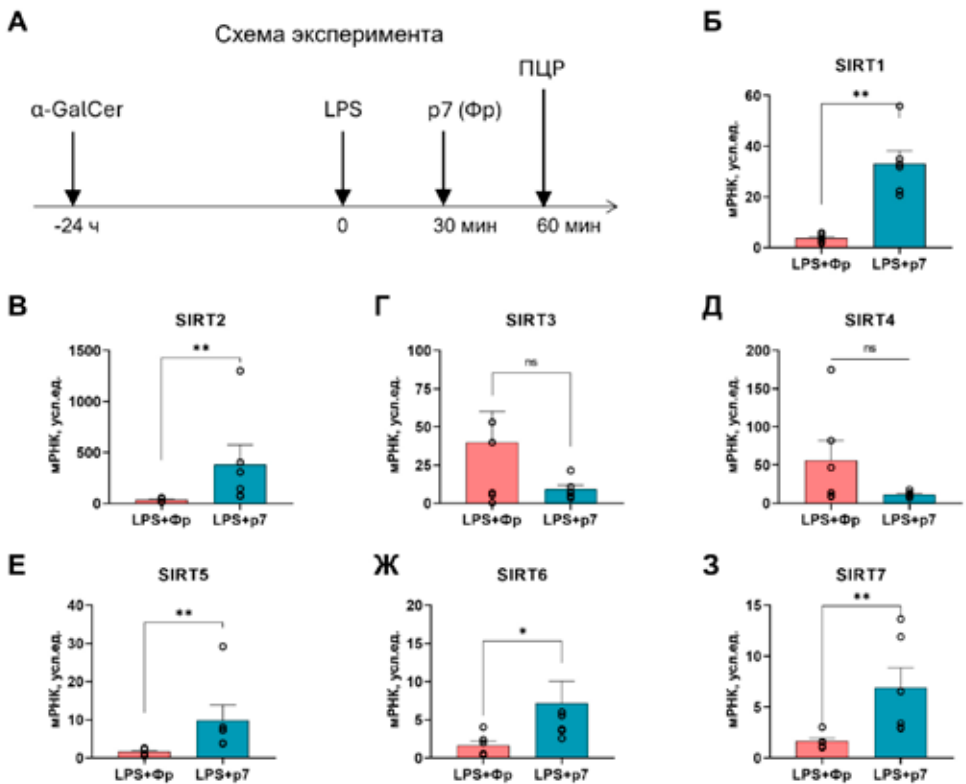


Рис. 2. Эффект гептапептида р7 на транскрипцию сиртуинов в легких мышей C57BL/6Y ($n=6$) с острым воспалением легких, индуцированным α -GalCer/LPS. Схема эксперимента (А). Уровни мРНК SIRT1 (Б), SIRT2 (В), SIRT3 (Г), SIRT4 (Д), SIRT5 (Е), SIRT6 (Ж) и SIRT7 (З) в легких животных, индуцированных α -GalCer/LPS и получавших ингаляционно гептапептид р7 (LPS+p7) или физ. р-р (LPS+Фр). За одну усл. единицу принято среднее уровней мРНК соответствующих сиртуинов у интактных животных. $M \pm m$ ($n=6$). ns — $p \geq 0,05$; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ по сравнению с контролем (LPS+Фр).

Fig. 2. Effect of heptapeptide p7 on sirtuin transcription in the lungs of C57BL/6Y mice ($n=6$) with α -GalCer/LPS-induced acute lung inflammation. Experimental design (A); mRNA levels of SIRT1 (B), SIRT2 (B), SIRT3 (Г), SIRT4 (Д), SIRT5 (Е), SIRT6 (Ж), and SIRT7 (З) in the lungs of α -GalCer/LPS-challenged mice treated with inhaled heptapeptide p7 (LPS+p7) or saline (LPS+Saline). The mean mRNA level of the respective sirtuins in intact (control) animals was taken as one arbitrary unit. Data are presented as $M \pm m$ ($n=6$). ns — $p \geq 0,05$; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ compared to the control group (LPS+Saline).

на транскрипцию мРНК SIRT3 ($p=0,4848$; рис. 2Г) и SIRT4 ($p=0,093$; рис. 2Д).

Обсуждение результатов

В настоящей работе впервые показано, что ингаляционное введение синтетического опиоидного гептапептида р7 статистически значительно повышает транскрипцию сиртуинов 1, 2, 5, 6 и 7 в легких в условиях острого воспаления, индуцированного α -GalCer/LPS.

С учетом того, что транскриптом сиртуинов в легких мышей линии C57BL/6Y в условиях воспаления представлен главным образом двумя ядерными сиртуинами SIRT1 и SIRT6, вызванное гептапептидом р7 повышение транскрипции этих сиртуинов, по-видимому, является определяющим фактором в противовоспалительном действии гептапептида р7.

Как известно, SIRT1 проявляет противовоспалительную активность, деацетилируя и тем самым инактивируя субстраты, вовлеченные в активацию воспалительного ответа. В частности, SIRT1 деацетилирует Lys310 в составе транскрипционного фактора NF- κ B [20], тем самым снижая его транскрипционную активность [12]. SIRT1 блокирует экспрессию провоспалительных цитокинов интерлейкина-6 (IL-6) и TNF- α , деацетилируя гистоны H3K9 [21] и H4K16 [17] соответственно. Помимо этого, SIRT1 деацетилирует сайты ядерной локализации в составе ядерного белка высокой подвижности бокс 1 (HMGB1), предотвращая его транслокацию из ядра во внеклеточное пространство и последующую активацию провоспалительного канонического пути активации NF- κ B, опосредуемую связыванием HMGB1 с толл-подобным рецептором 4 (TLR4) [15, 16]. Деацетилаза SIRT6 также проявляет противовоспалительную активность, деацетилируя гистон H3K9 и блокируя тем самым транскрипцию генов провоспалительных цитокинов, регулируемых NF- κ B [11].

Следует отметить, что механизм противовоспалительного действия опиоидного гептапептида р7 аналогичен механизму, обнаруженному ранее для гексапептида [D-Ala²]-динорфина(1-6), где противовоспалительный эффект последнего также был связан с повышением транскрипции SIRT1 и SIRT6 в условиях воспаления [5].

Заключение

В настоящей работе впервые изучены эффекты опиоидного гептапептида [D-Ala²]-динорфин(1-7)амида, синтетического аналога природного динорфина(1-7), на транскрипцию всех семи изоформ сиртуинов в условиях острого воспаления легких, вызванного интратрахеальным введением α -GalCer/LPS мышам линии C57BL/6Y.

Впервые показано, что ингаляционное введение гептапептида [D-Ala²]-динорфин(1-7)амида статистически значительно повышает транскрипцию в легких двух ядерных сиртуинов, SIRT1 и SIRT6, на долю которых приходится более 98% мРНК в общем транскриптоме всех сиртуинов. В этом состоит основной результат работы. Также впервые показано, что Лейтрагин статистически значительно повышает транскрипцию минорных сиртуинов 2, 3 и 7 в легких в условиях острого воспаления, доля которых в общем транскриптоме всех семи сиртуинов приближается к 2%.

Полученные в настоящей работе результаты позволяют уточнить механизм противовоспалительного действия гептапептида [D-Ala²]-динорфин(1-7)амида, связанного со способностью указанного гептапептида активировать транскрипцию ядерных сиртуинов SIRT1 и SIRT6, для которых способность блокировать действие провоспалительного транскрипционного фактора NF- κ B через деацетилирование как самого фактора (эффект SIRT1), так и гистонов (эффекты SIRT1 и SIRT6), известна из литературных источников.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Булгаков С.А. Гексапептид даларгин в клинической гастроэнтерологии: 30-летний опыт использования препарата. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2016;26(3):103–112. [Bulgakov S.A. Geksapeptid dalargin v klinicheskoy gastroenterologii: 30-letnij opyt ispol'zovaniya preparata [The hexapeptide dalargin in clinical gastroenterology: 30 years of experience with the drug]. *Russian J. of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2016;26(3):103–112. (In Russian)]. DOI: 10.22416/1382-4376-2016-26-3-103-112.
2. Каркищенко В.Н., Помыткин И.А., Гасанов М.Т., Нестеров М.С., Фокин Ю.В., Таболякова Л.А., Алимкина О.В., Хвостов Д.В. Лейтрагин повышает выживаемость животных в модели фатального острого респираторного дистресс-синдрома при профилактическом и лечебном режимах введения. *Биомедицина*. 2020;16(4):44–51. [Karkischenko V.N., Pomytkin I.A., Gasanov M.T., Nesterov M.S., Fokin Yu.V., Tabolyakova L.A., Alimkina O.V., Khvostov D.V. Leitragin povyshayet vyzhivaemost' zhivotnykh v modeli fatal'nogo ostrogo respiratornogo distress-sindroma pri profilakticheskom i lechebnoy rezhimakh vvedeniya [Leitragin increases animal survival in a model of fatal acute respiratory distress syndrome with prophylactic and therapeutic administration]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2020;16(4):44–51. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-16-4-44-51.
3. Каркищенко В.Н., Помыткин И.А., Петрова Н.В., Нестеров М.С., Агельдинов 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. Lejtragin podavlyaet ekspressiyu citokinov, vkladyuchaya interlejkin-6, v modeli «citokinovogo shtorma» u myshey linii C57BL/6Y s inducirovannym ostrym respiratornym distress-sindromom [Leitragin 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.
4. Каркищенко В.Н., Скворцова В.И., Помыткин И.А., Каркищенко Н.Н. Патент RU 2760133 «Амиды гептапептида для лечения HMGB1-зависимых заболеваний», дата подачи заявки: 22.04.2021, дата регистрации: 22.11.2021, патентообладатель: ФГБУН ИЦБМТ ФМБА России. [Karkischenko V.N., Skvortsova V.I., Pomytkin I.A., Karkischenko N.N. Patent RU 2760133 «Amidy heptapeptida dlya lecheniya HMGB1-zavisimykh za-bolevaniy» [Amides of a heptapeptide for the treatment of HMGB1-dependent diseases], application filing date: 22.04.2021, registration date: 22.11.2021, patent holder: Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia. (In Russian)].
5. Помыткин И.А., Огнева Н.С., Петрова Н.В., Фокин Ю.В., Слободенюк В.В., Леднева Н.А., Каркищенко В.Н. Лейтрагин повышает транскрипцию гена Сиртуин 6 в условиях острого воспаления легких у мышей. *Биомедицина*. 2025;21(1):8–17. [Pomytkin I.A., Ogneva N.S., Petrova N.V., Fokin Yu.V., Slobodenyuk V.V., Ledneva N.A., Karkischenko V.N. Leitragin povyshayet transkriptsiyu gena Sirtuin 6 v usloviyakh ostrogo vospaleniya legkikh u myshei [Leitragin increases Sirtuin 6 gene transcription in acute lung inflammation in mice]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2025;21(1):8–17. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-21-1-8-17.
6. Chavkin C. Dynorphin--still an extraordinarily potent opioid peptide. *Mol. Pharmacol.* 2013;83(4):729–736. DOI: 10.1124/mol.112.083337.
7. Fazalul Rahiman S.S., Morgan M., Gray P., Shaw P.N., Cabot P.J. Dynorphin 1-17 and Its N-Terminal Biotransformation Fragments Modulate Lipopolysaccharide-Stimulated Nuclear Factor-kappa B Nuclear Translocation, Interleukin-1beta and Tumor Necrosis Factor-alpha in Differentiated THP-1 Cells. *PLoS One*. 2016;11(4):e0153005. DOI: 10.1371/journal.pone.0153005.
8. Goldstein A., Tachibana S., Lowney L.I., Hunkapiller M., Hood L. Dynorphin-(1-13), an extraordinarily potent opioid peptide. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1979;76(12):6666–6670. DOI: 10.1073/pnas.76.12.6666.
9. Goldstein A., Fischli W., Lowney L.I., Hunkapiller M., Hood L. Porcine pituitary dynorphin: complete amino acid sequence of the biologically active heptadecapeptide. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1981;78(11):7219–7223. DOI: 10.1073/pnas.78.11.7219.
10. Hassan A.H., Pzewlocki R., Herz A., Stein C. Dynorphin, a preferential ligand for kappa-opioid receptors, is present in nerve fibers and immune cells within inflamed tissue of the rat. *Neurosci. Lett.* 1992;140(1):85–88. DOI: 10.1016/0304-3940(92)90688-4.
11. Kawahara T.L., Michishita E., Adler A.S., Damian M., Berber E., Lin M., McCord R.A., Ongaigui K.C., Boxer L.D., Chang H.Y., Chua K.F. SIRT6 links histone H3 lysine 9 deacetylation to NF-kappaB-dependent gene expression and organismal life span. *Cell*. 2009;136(1):62–74. DOI: 10.1016/j.cell.2008.10.052.
12. Kiernan R., Brès V., Ng R.W., Coudart M.P., El Messaoudi S., Sardet C., Jin D.Y., Emiliani S., Benkirane M. Post-activation turn-off of NF-kappa B-dependent transcription is regulated by acetylation of p65. *J. Biol. Chem.* 2003;278(4):2758–2766. DOI: 10.1074/jbc.M209572200.

13. Morgan M., Heffernan A., Benhabib F., Wagner S., Hewavitharana A.K., Shaw P.N., Cabot P.J. The efficacy of Dynorphin fragments at the κ , μ and δ opioid receptor in transfected HEK cells and in an animal model of unilateral peripheral inflammation. *Peptides*. 2017;89:9–16. DOI: 10.1016/j.peptides.2016.12.019.
14. Morgan M., Herath H.M., Cabot P.J., Shaw P.N., Hewavitharana A.K. Dynorphin A 1-17 biotransformation in inflamed tissue, serum and trypsin solution analysed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 2012;404(10):3111–3121. DOI: 10.1007/s00216-012-6406-8.
15. Rabadi M.M., Xavier S., Vasko R., Kaur K., Goligorsky M.S., Ratliff B.B. High-mobility group box 1 is a novel deacetylation target of Sirtuin1. *Kidney Int.* 2015;87(1):95–108. DOI: 10.1038/ki.2014.217.
16. Kang R., Chen R., Zhang Q., Hou W., Wu S., Cao L., Huang J., Yu Y., Fan X.G., Yan Z., Sun X., Wang H., Wang Q., Tsung A., Billiar T.R., Zeh H.J. 3rd, Lotze M.T., Tang D. HMGB1 in health and disease. *Mol. Aspects Med.* 2014;40:1–116. DOI: 10.1016/j.mam.2014.05.001.
17. Chen G.D., Yu W.D., Chen X.P. Sirt1 activator represses the transcription of TNF- α in THP-1 cells of a sepsis model via deacetylation of H4K16. *Mol. Med. Rep.* 2016;14(6):5544–5550. DOI: 10.3892/mmr.2016.5942.
18. 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.
19. Yang Y., Liu Y., Wang Y., Chao Y., Zhang J., Jia Y., Tie J., Hu D. Regulation of SIRT1 and Its Roles in Inflammation. *Front Immunol.* 2022;13:831168. DOI: 10.3389/fimmu.2022.831168.
20. Yeung F., Hoberg J.E., Ramsey C.S., Keller M.D., Jones D.R., Frye R.A., Mayo M.W. Modulation of NF- κ B-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *EMBO J.* 2004;23(12):2369–2380. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600244.
21. Zhang Y., Li Y., Li J., Li B., Chong Y., Zheng G., Sun S., Feng F. SIRT1 alleviates isoniazid-induced hepatocyte injury by reducing histone acetylation in the IL-6 promoter region. *Int. Immunopharmacol.* 2019;67:348–355. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.11.054.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Помыткин Игорь Анатольевич, д.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: ipomytkin@mail.ru

Огнева Настасья Сергеевна*, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: ognevanastya@mail.ru

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

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

Алимкина Оксана Владимировна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: alimkina@scbmt.ru

Igor A. Pomytkin, Dr. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: ipomytkin@mail.ru

Nastasya S. Ogneva*, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: ognevanastya@mail.ru

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

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

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

Каркищенко Владислав Николаевич, д.м.н.,
проф., ФГБУН «Научный центр биомедицин-
ских технологий ФМБА России»;

e-mail: scbmt@yandex.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

Огнева Аксинья Сергеевна, ФГБУН «Научный
центр биомедицинских технологий ФМБА
России»;

e-mail: axinyaogneva@yandex.ru

Aksin'ya S. Ogneva, Scientific Center of Bio-
medical Technologies of the Federal Medical
and Biological Agency of Russia;

e-mail: axinyaogneva@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ЭФФЕКТИВНАЯ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ АНАЛИЗА N-АЦЕТИЛЯТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ ТОКСИКАНТОВ КЛАССА ГИДРАЗИНОВ

Н.В. Петрова*, Н.Н. Каркищенко, Р.А. Клёсов

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

Необходимость в создании эффективной токсикогенетической модели анализа N-ацетилирования при исследовании токсического действия соединений класса гидразинов является актуальной задачей из-за широкого применения этих соединений в промышленности и фармации. Показано, что трансгенные гуманизированные мыши, несущие ген *NAT2**homo* человека, моделируют основные аспекты токсичности гидразина у человека. Именно они презентуются нами в качестве фармакогенетической экстраполяционной платформы для оценки и прогнозирования токсических эффектов соединений класса гидразинов при проведении направленного скрининга новых нетоксичных фармацевтических средств класса гидразина солянокислого. Показано, что оценку токсикогенетического действия соединений этого класса можно проводить, анализируя уровень транскрипции гена *NAT2**homo*, кодирующего у трансгенной мыши цитозольный белок NAT2 человека, а также уровни транскрипции генов ядерных белков сиртуина 1 SIRT1 и HMGB1.

Ключевые слова: гидразин солянокислый, биомодель, гуманизированные трансгенные линии мышей, гены *NAT1* и *NAT2*, экспрессия генов

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Петрова Н.В., Каркищенко Н.Н., Клёсов Р.А. Эффективная фармакогенетическая модель анализа N-ацетиляторных процессов токсикантов класса гидразинов. *Биомедицина*. 2026;22(1):25–37. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-25-37>

Поступила 15.01.2026

Принята после доработки 03.02.2026

Опубликована 30.04.2026

EFFECTIVE PHARMACOGENETIC MODEL FOR ANALYZING N-ACETYLATION OF HYDRAZINE-CLASS TOXICANTS

Natalia V. Petrova*, Nikolay N. Karkischenko, Roman A. Klesov

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 widespread use of hydrazine derivatives in industry and pharmacy necessitates the development of an effective toxicogenetic model to analyze their N-acetylation and associated toxic effects. Transgenic humanized mice carrying the human *NAT2* gene have been shown to model key aspects of hydrazine toxicity in humans. We present these mice as a pharmacogenetic extrapolation platform for assessing and predicting the toxic effects of hydrazine-class compounds during the targeted screening of new non-toxic hydrazine hydrochloride-based pharmaceuticals. The toxicogenetic effects of these compounds can be assessed by analyzing the transcriptional levels of the human *NAT2* gene, which encodes the human cytosolic protein NAT2 in a transgenic mouse, as well as those of the genes of nuclear proteins SIRT1 and HMGB1.

Keywords: hydrazine hydrochloride, biomodel, humanized transgenic mouse lines, *NAT1* and *NAT2* genes, gene expression

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

For citation: Petrova N.V., Karkischenko N.N., Klesov R.A. Effective Pharmacogenetic Model for Analyzing N-Acetylation of Hydrazine-Class Toxicants. *Journal Biomed.* 2026;22(1):25–37. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-25-37>

Submitted 15.01.2026

Revised 03.02.2026

Published 30.04.2026

Введение

Критическая стадия в механизме детоксикации ксенобиотиков химических классов гидразина (изониазида, теризидона) и ариламина включает реакцию переноса ацетильной группы от ацетил-КоА к атому азота в составе молекулы ксенобиотика при участии цитозольных N-ацетилтрансфераз 1 (*NAT1*) и 2 (*NAT2*) [19]. *NAT*-зависимое N-ацетилирование занимает важное место среди всех процессов конъюгации II фазы биотрансформации лекарств и ксенобиотиков. *NAT1* и *NAT2* имеют различную субстратную специфичность, причем *NAT1* широко распространен в тканях и ацетилюет преимущественно ариламины, тогда как *NAT2* преимущественно обнаруживается в клетках печени, желудочно-кишечного тракта и иммунной системы, где ацетилюет преимущественно вещества, относящиеся к классу гидразина.

Субстратная специфичность *NAT*-ферментов была подробно изучена ранее на биоматериалах инбредных линий мышей линий C57BL/6Y, A/Sn, C3H, а также на мышах трансгенных гуманизированных линий *NAT1* и *NAT2* (производства НЦБМТ ФМБА России), чувствительных к факторам канцерогенеза в целом и воздействию ксенобиотиков [5].

Для гена *NAT2* к настоящему времени описано 45 нуклеотидных вариаций, большинство из которых представляют собой однонуклеотидные полиморфизмы [13]. Сочетание этих вариантов влияет на структуру белка и способность *NAT2*

к ацетилированию, формируя как минимум три фенотипа: быстрый, промежуточный и медленный [14]. Генетические паттерны *NAT2* изменяют эффективность детоксикации экзогенных веществ и могут влиять на восприимчивость к побочным эффектам лекарств и веществ, поступающих с пищей, а также могут приводить к аномалиям работы нервной и иммунной систем и другим негативным последствиям, влияющим на качество жизни.

Гидразин (диамин, диамид) — токсичное неорганическое соединение, имеющее брутто-формулу N_2H_4 и относящееся к 3-му классу токсикантов по классификации Hodge and Sterner (1943). Ряд органических производных из класса гидразинов известны как лекарственные средства, в т.ч. изониазид и теризидон как противотуберкулезные средства, а прокарбазин — химиотерапевтическое средство, применяемое в комплексной терапии болезни Ходжкина, меланомы и бронхогенной карциномы. Лечение изониазидом сопровождается высоким уровнем побочных эффектов, в т.ч. повышением уровней печеночных маркеров у 10–20% пациентов, риском фатального токсического гепатита у 0,05–1% пациентов и частотой периферической нейропатии у 2–6,5% пациентов [11]. Повышенный риск гепатотоксичности при приеме изониазида наблюдается у пациентов с фенотипом «*NAT2* медленный ацетилятор», по сравнению с людьми с другими типами ацетиляторов [2, 18]. В целом из-за высокой эффективности органических гидразидов их

рассматривают как потенциально важный класс лекарственных средств [20], использование которых, однако, ограничивается токсическими эффектами. Это обстоятельство вызывает необходимость разработки фармакогенетической модели на животных для анализа процессов N-ацетилирования токсикантов класса гидразинов.

В НЦБМТ ФМБА России ранее выполнена работа по созданию ДНК-конструкций, несущих гены *NAT1* и *NAT2* человека, а также получены линии трансгенных гуманизированных мышей, несущих соответствующие гены [3, 4, 6].

Цель работы — оценить возможность применения трансгенных гуманизированных животных биомоделей линий *NAT1* и *NAT2* в доклинических биомедицинских исследованиях острого токсического поражения производными гидразина солянокислого (ГСК).

Материалы и методы

Материалы

Набор РНК-экстран для извлечения РНК был приобретён в ООО «Синтол» (Россия). Набор РЕВЕРТА-Л для синтеза кДНК был получен от ООО «АмплиСенс» (Россия). Специфические праймеры и зонды для генов *NAT2*, *NAT1*, *SIRT1mus*, *HMGB1mus* были синтезированы ЗАО «Синтол» (Россия) на основе последовательностей, представленных ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

Лабораторные животные

Исследования проводились в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская обл.) на самцах трансгенных гуманизированных мышей линий *NAT1* и *NAT2* (собственное производство). Возраст животных 10–12 недель, начальная средняя масса $20 \pm 2,0$ г. Животные были отобраны в эксперимент методом рандомизации. Мышей содержали в микроизоляторной системе Raig

Iso System по 6 особей в группе. Животные соответствовали категории улучшенных конвенциональных. В качестве рациона 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°C, относительной влажности 60–70% и искусственном освещении с циклом 12/12.

Исследования проводились в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета о защите животных, используемых в научных целях от 22.09.2010; Базельской декларацией (2011); ГОСТ 53434-2009 от 02.12.2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)»; Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств»; Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов»; Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [8]. Все эксперименты были одобрены биоэтической комиссией ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

Группы животных и введение препаратов

Мыши каждой линии были рандомизированы в две группы. В первой группе мышам вводили физ. р-р (контроль), а во второй — токсикант (ГСК) внутривенно однократно в дозе 375 мг/кг, объём введения 250,0 мкл. На третий день у всех мышей были отобраны образцы лимфатических

узлов, тканей легкого, печени и почек. В этих органах исследовалась экспрессия кДНК генов *NAT2*, *NAT1*, *HMGB1mus*, *SIRT1mus* методом ПЦР в реальном времени с использованием специфических праймеров и флуоресцентных зондов.

Нормированная амплитуда флуоресценции никотинамидадениндинуклеотида (НАДН), окисленного флавинадениндинуклеотида (ФАД) и показатель окислительного метаболизма (ПОМ)

НАДН, ФАД и ПОМ как меру процессов окислительного метаболизма с участием митохондрий [16] определяли неинвазивно с помощью лазерного диагностического аппарата «ЛАЗМА СТ» (Россия) в соответствии с инструкциями производителя и с использованием устройства для фиксации животных [9]. Аппарат «ЛАЗМА СТ» в реальном времени определяет состояние микроциркуляции (уровень периферического кровотока, лимфотока) и обменных процессов (содержание коферментов — кофермент -НАДН — восстановленный никотинамид-адениндинуклеотид и кофермент -ФАД — окисленный флавин-адениндинуклеотид, которые являются биомаркерами состояния окислительного метаболизма в ткани), а также ПОМ — показатель окислительного метаболизма — это комплексный диагностический показатель, характеризующий состояние связанных между

собой компартментов микроциркуляторно-тканевой системы кожи: микроциркуляции крови и биомаркеров окислительного метаболизма — коферментов НАДН и ФАД.

ПЦР в реальном времени

Общую РНК экстрагировали из образцов с помощью набора РНК-экстран («Синтол», Россия) и переводили в комплементарную ДНК с помощью набора РЕВЕРТА-Л («АмплиСенс», Россия) в соответствии с инструкциями производителей. В качестве референсного гена был выбран ген *GAPDH*. Уровни транскрипции генов *NAT1* и *NAT2*, *HMGB1mus*, *Sirt1mus* в исследуемых пробах определяли с помощью амплификатора CFX-96 («Bio-Rad», США) с использованием специфических праймеров и флуоресцентных зондов, указанных в табл.

Результаты измерений представляли как кратное изменение уровней мРНК целевого гена.

Статистический анализ

Критерий Шапиро—Уилка применяли для выбора параметрических или непараметрических методов статистического анализа. Статистический анализ проводили с помощью непарного двустороннего t-теста Стьюдента и двухфакторного дисперсионного анализа (two-way ANOVA) с апостериорным тестом Сидака для множественных сравнений между группами с ис-

Таблица. Олигонуклеотидные праймеры и зонды
Table. Oligonucleotide primers and PCR probes

Ген	Праймер / Зонд	Нуклеотидная последовательность
<i>NAT1</i>	F	5-AAGTTGTGAGAAGAAATCGG-3
	R	5-ACTGTTCCCTTCTGATTTGG-3
	Z	ROX-TGTCTCCAGGTCAATCATCTTCTGT-BHQ2
<i>NAT2</i>	F	5-GGT TTA CTG TTT GGT GGG CT-3
	R	5-CAG GTT TGG GCA CGA GAT TT-3
	Z	R6G- CT GAG GAA GAG GTT GAA GAA GTG CT -BHQ2
<i>SIRT1 mus</i>	F	5'- TCCTTGGAGACTGCGATGTT-3'
	R	5'- ATGAAGAGGTGTTGGTGGCA-3'
	Z	ROX - TGAGTTGTGTGCATAGGCTAGGTGGT-BHQ2
<i>HMGB1 mus</i>	F	5'- GGGTTGTAATTTGGCATGGA-3'
	R	5'- GTCAACAAAACAGCCGCAAT-3'
	Z	ROX-AGTTATATATGGGACAGTAGTTTG-BHQ2

пользованием программного обеспечения GraphPad Prism v.8.3.0 (“San Diego”, США). Были использованы следующие обозначения: M — среднее, m — стандартная ошибка, n — объём выборки, p — достигнутый уровень значимости. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследований

Для того чтобы оценить различия в метаболизме трансгенных гуманизированных животных линий NAT1 и NAT2, а также гибридов F1 CBA/Jac × C57BL/6Y, которые являются генетическим фоном для этих трансгенных линий, были получены значения тканевой флуоресценции коферментов НАДН и ФАД, а также оптического показателя окислительного метаболизма ПОМ.

Двусторонний непарный t-тест Стьюдента не выявил статистически значимых отличий у трансгенных мышей линии NAT1 в уровнях тканевой флуоресценции НАДН ($p=0,1162$), ФАД ($p=0,4136$) и по показателю ПОМ ($p=0,1964$) по сравнению с соответствующими значениями у гибридов.

Двусторонний непарный t-тест Стьюдента выявил наличие статистически значимых отличий у трансгенных мышей

линии NAT2 в уровнях тканевой флуоресценции НАДН ($p=0,0032$), ФАД ($p=0,027$), а также по показателю ПОМ ($p=0,032$) по сравнению с соответствующими значениями у гибридов (рис. 1).

Для того чтобы оценить эффект ГСК на транскрипцию генов *NAT1* и *NAT2*, *HMGB1mus* и *SIRT1mus*, животным соответствующих линий вводили ГСК или физ. р-р (контроль). Образцы тканей тестировали на содержание мРНК целевых генов. Результаты представлены на рис. 2, 3, 4.

Двухфакторный анализ ANOVA выявил наличие статистически значимых различий между группами в эксперименте с линией трансгенных мышей, несущих ген человека *NAT1*, по фактору «ГСК / физ. раствор» (рис. 2; $F_{1,32}=15,55$; $p=0,0004$), но не по фактору «ткань» ($F_{3,32}=2,082$; $p=0,1221$). Апостериорный тест Сидака показал, что ГСК статистически значимо в 5,3 раза увеличил экспрессию гена *NAT1* в почках ($p=0,0033$) по сравнению с контролем. Хотя экспрессия гена *NAT1* в лимфоидной ткани, легких и печени также была повышена у животных, получавших ГСК, по сравнению с контролем, уровень статистической значимости ($p < 0,05$)

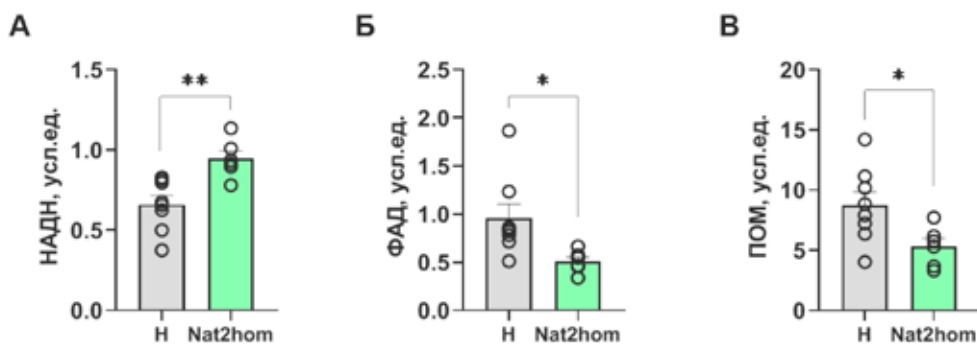


Рис. 1. Уровни тканевой флуоресценции НАДН (А), ФАД (Б) и показатель окислительного метаболизма ПОМ (В) у трансгенных гуманизированных мышей линии NAT2 и гибридов F1 CBA/Jac × C57BL/6Y (H). Результаты представлены как $M \pm m$ ($n=6-8$). * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ по сравнению с гибридами.

Fig. 1. Tissue fluorescence levels of NADH (A), FAD (B) and the oxidative metabolism index (B) in NAT2-humanized mice and F1 CBA/Jac × C57BL/6Y hybrids (H). The results are presented as $M \pm m$ ($n=6-8$). * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ compared to the hybrids.

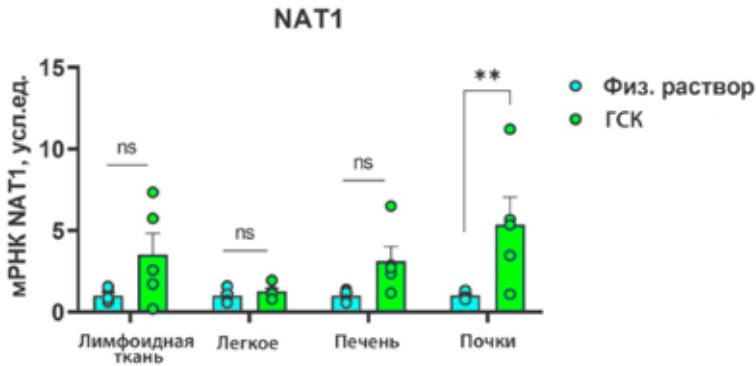


Рис. 2. Эффект гидразина солянокислого (ГСК) на транскрипцию трансгена *NAT1* в лимфоидной ткани, легких, печени и почках мышей трансгенной линии *NAT1*. Результаты представлены как $M \pm m$ ($n=6$). ** — $p < 0,01$; **** — $p < 0,0001$; ns — $p > 0,05$.

Fig. 2. Effect of hydrazine hydrochloride (ГСК) on the transcription of the *NAT1* transgene in the lymphoid tissue, lungs, liver, and kidneys of *NAT1*-humanized mice. The results are presented as $M \pm m$ ($n=6$). ** — $p < 0.01$; **** — $p < 0.0001$; ns — $p > 0.05$.

не был достигнут. Таким образом, токсикант вызывает повышение экспрессии трансгена *NAT1* гена человека в почках у трансгенных животных соответствующей линии *NAT1* мышей.

Двухфакторный анализ ANOVA выявил наличие статистически значимых различий между группами в эксперименте с линией трансгенных мышей, несущих ген человека *NAT*, по фактору «ГСК / физ. раствор» (рис. 3; $F_{1,32}=205,9$; $p < 0,0001$),

но не по фактору «ткань» ($F_{3,32}=0,066$; $p=0,9775$). Апостериорный тест Сидака показал, что токсикант статистически значительно подавил экспрессию гена *NAT2* во всех изученных тканях до уровней 2,2% в лимфоидной ткани ($p < 0,0001$), 10,4% в легких ($p < 0,0001$), 5,9% в печени ($p < 0,0001$) и 5,0% в почках ($p < 0,0001$) от соответствующих контролей. Таким образом, ГСК подавил транскрипцию гена *NAT2* человека во всех

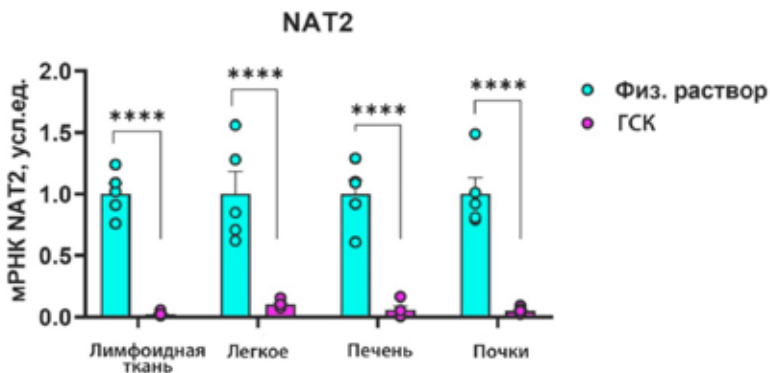


Рис. 3. Эффект гидразина солянокислого (ГСК) на транскрипцию трансгена *NAT2* в лимфоидной ткани, легких, печени и почках мышей трансгенной линии *NAT2*. Результаты представлены как $M \pm m$ ($n=6$). ** — $p < 0,01$; **** — $p < 0,0001$; ns — $p > 0,05$.

Fig. 3. Effect of hydrazine hydrochloride (ГСК) on the transcription of the *NAT2* transgene in the lymphoid tissue, lungs, liver, and kidneys of *NAT2*-humanized mice. The results are presented as $M \pm m$ ($n=6$). ** — $p < 0.01$; **** — $p < 0.0001$; ns — $p > 0.05$

исследованных тканях у трансгенных животных, несущих этот ген.

Двухфакторный анализ ANOVA выявил наличие статистически значимых различий в транскрипции гена *HMGB1mus* между группами в эксперименте с линией трансгенных мышей, несущих ген человека *NAT1*, как по фактору «ГСК / физ. раствор» (рис. 4; $F_{1,24}=5,41$; $p=0,028$), так и по фактору «ткань» ($F_{2,24}=33,23$; $p<0,0001$). Апостериорный тест Сидака показал, что токсикант статистически значимо в 3,9 раза увеличил экспрессию гена

HMGB1mus в почках ($p<0,0001$) по сравнению с контролем. Хотя экспрессия гена *NAT1* в легких и печени была снижена у животных, получавших гидразин, по сравнению с контролем, уровень статистической значимости ($p<0,05$) не был достигнут. Таким образом, ГСК вызывает повышение экспрессии гена *HMGB1mus* в почках у трансгенных животных, несущих ген человека *NAT1*.

Двухфакторный анализ ANOVA выявил наличие статистически значимых различий в транскрипции гена *HMGB1mus*

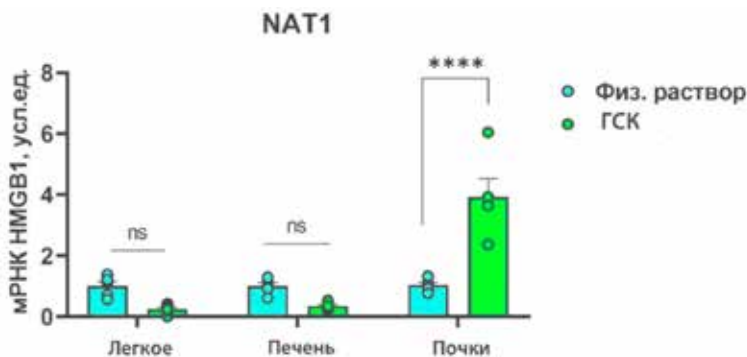


Рис. 4. Эффект гидразина солянокислого (ГСК) на транскрипцию гена мыши *Hmgb1* в легких, печени и почках мышей трансгенной линии *NAT1*. Результаты представлены как $M\pm m$ ($n=6$). **** — $p<0,0001$; ns — $p>0,05$.

Fig. 4. Effect of hydrazine hydrochloride (GSK) on the transcription of the mouse *Hmgb1* gene in the lungs, liver, and kidneys of *NAT1*-humanized mice. The results are presented as $M\pm m$ ($n=6$). **** — $p<0.0001$; ns — $p>0.05$.

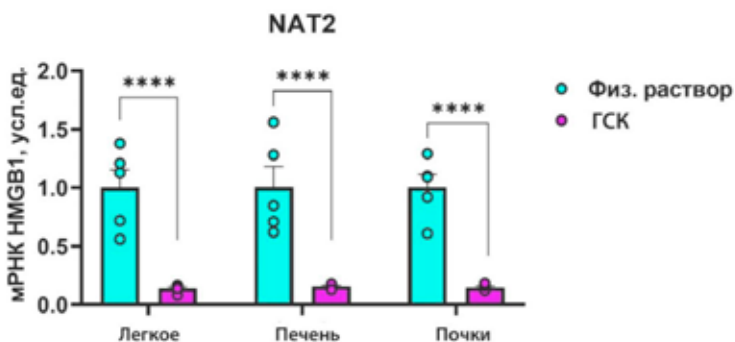


Рис. 5. Эффект гидразина солянокислого (ГСК) на транскрипцию гена мыши *Hmgb1* в легких, печени и почках мышей трансгенных линий *NAT2*. Результаты представлены как $M\pm m$ ($n=6$). **** — $p<0,0001$; ns — $p>0,05$.

Fig. 5. Effect of hydrazine hydrochloride (GSK) on the transcription of the mouse *Hmgb1* gene in the lungs, liver, and kidneys of *NAT2*-humanized mice. The results are presented as $M\pm m$ ($n=6$). **** — $p<0.0001$; ns — $p>0.05$.

между группами в эксперименте с линией трансгенных мышей, несущих ген человека *NAT2*, по фактору «ГСК / физ. раствор» (рис. 5; $F_{1,24}=94,51$; $p<0,0001$), но не по фактору «ткань» ($F_{2,24}=0,0055$; $p=0,9945$). Апостериорный тест Сидака показал, что токсикант подавил транскрипцию гена *HMGB1mus* во всех исследованных тканях ($p<0,0001$) по сравнению с контролем. Таким образом, токсикант ГСК подавил транскрипцию гена *HMGB1mus*

во всех исследованных тканях у трансгенных животных, несущих ген человека *NAT2*. Двухфакторный анализ ANOVA выявил наличие статистически значимых отличий в транскрипции гена *SIRT1mus* между группами в эксперименте с линией трансгенных мышей, несущих ген человека *NAT1*, как по фактору «ГСК / физ. раствор» (рис. 6; $F_{1,24}=12,64$; $p=0,0016$), так и по фактору «ткань» ($F_{2,24}=5,487$; $p=0,0109$). Апостериорный тест Сидака по

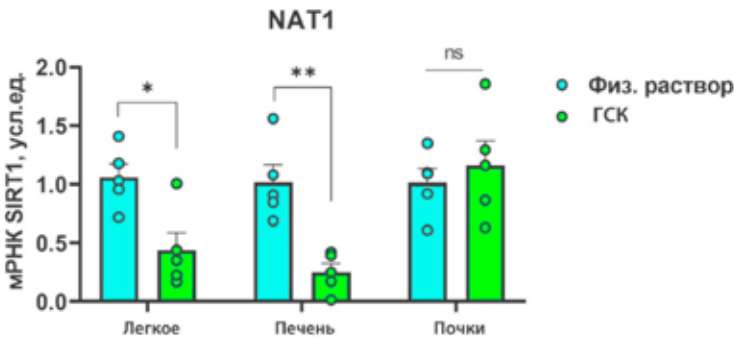


Рис. 6. Эффект гидразина солянокислого (ГСК) на транскрипцию гена мыши *SIRT1mus* в легких, печени и почках мышей трансгенных линий *NAT1*. Результаты представлены как $M\pm m$ ($n=6$). * — $p<0,05$; ** — $p<0,01$; **** — $p<0,0001$; ns — $p>0,05$.

Fig. 6. Effect of hydrazine hydrochloride (GSK) on the transcription of the mouse *Sirt1* gene in the lungs, liver, and kidneys of *NAT1*-humanized mice. The results are presented as $M\pm m$ ($n=6$). * — $p<0,05$; ** — $p<0,01$; **** — $p<0,0001$; ns — $p>0,05$.

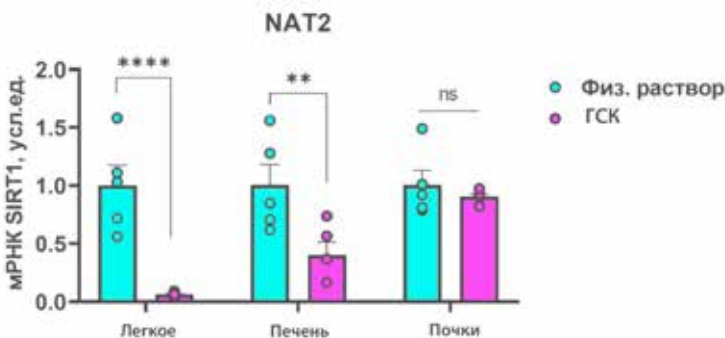


Рис. 7. Эффект гидразина солянокислого (ГСК) на транскрипцию гена мыши *SIRT1mus* в легких, печени и почках мышей трансгенных линий *NAT2*. Результаты представлены как $M\pm m$ ($n=6$). * — $p<0,05$; ** — $p<0,01$; **** — $p<0,0001$; ns — $p>0,05$.

Fig. 7. Effect of hydrazine hydrochloride (GSK) on the transcription of the mouse *Sirt1* gene in the lungs, liver, and kidneys of *NAT2*-humanized mice. The results are presented as $M\pm m$ ($n=6$). * — $p<0,05$; ** — $p<0,01$; **** — $p<0,0001$; ns — $p>0,05$.

казал, что ГСК статистически значимо подавил экспрессию гена *SIRT1mus* в легких и печени ($p < 0,0001$), но не в почках ($p > 0,05$), по сравнению с контролем (физ. р-р). Таким образом, ГСК вызывает подавление экспрессии гена *SIRT1mus* в легких и печени, но не в почках у трансгенных животных, несущих ген человека *NAT1*.

Двухфакторный анализ ANOVA выявил наличие статистически значимых отличий в транскрипции гена *SIRT1* между группами в эксперименте с линией трансгенных мышей, несущих ген человека *NAT2*, как по фактору «ГСК / физ. раствор» (рис. 7; $F_{1,24} = 28,90$; $p < 0,0001$), так и по фактору «ткань» ($F_{2,24} = 5,800$; $p = 0,0088$). Апостериорный тест Сидака показал, что токсикант статистически значимо подавил экспрессию гена *SIRT1mus* в легких ($p < 0,0001$) и печени ($p < 0,01$), но не в почках ($p > 0,05$), по сравнению с контролем. Таким образом, токсикант ГСК вызывает подавление экспрессии гена *SIRT1mus* в легких и печени, но не в почках у трансгенных животных, несущих ген человека *NAT2*.

Обсуждение результатов

В настоящей работе впервые проведена оценка различий в метаболизме трансгенных гуманизированных животных линий *NAT1* и *NAT2* с гибридами F1 CBA/лас × C57BL/6Y, которые являются генетическим фоном для этих трансгенных линий. Для этого были получены значения тканевой флуоресценции коферментов НАДН и ФАД, а также ПОМ с использованием лазерного диагностического прибора «Лазма СТ». Не было выявлено существенных отличий в метаболизме трансгенных мышей, несущих ген человека *NAT1*, и гибридами. Однако трансгенные мыши, несущие ген человека *NAT2*, имели статистически значимо повышенный на 43% тканевый сигнал НАДН и сниженный на 47% сигнал ФАД, а также сниженный на 39% ПОМ по сравнению с контрольными мышами-

гибридами. С учетом того что все указанные показатели относятся в основном к показателям митохондриального метаболизма [16], полученные результаты указывают на то, что трансгенные гуманизированные мыши линии *NAT2* отличаются сниженным митохондриальным метаболизмом.

В настоящей работе впервые изучены эффекты ГСК как модельного токсиканта на транскрипцию ряда генов у мышей трансгенных линий *NAT1* и *NAT2*. У мышей трансгенной линии *NAT1* ГСК повышал транскрипцию генов *NAT1* и *HMGB1mus* в почках, но не в легких и печени, при этом подавлял транскрипцию гена *SIRT1mus* в легких и печени, не влияя на транскрипцию этого гена в почках. У мышей трансгенной линии *NAT2* ГСК подавлял транскрипцию генов *NAT2*, *HMGB1mus* и *SIRT1mus* во всех исследованных тканях, за исключением гена *SIRT1mus* в почках. В целом ГСК в основном подавляет транскрипцию исследованных генов у мышей обеих линий, но в значительно большей степени подавляет транскрипцию генов у мышей линии *NAT2*, чем у мышей линии *NAT1*, т.к. является субстратом фермента *NAT2* [1, 7]. Таким образом, из двух исследованных линий мыши *NAT2* более чувствительны к токсическому действию ГСК.

Анализ влияния ГСК на транскрипцию отдельных генов у мышей линии *NAT2* показывает, что его токсическое действие является сложным. Гидразин подавляет транскрипцию гена *NAT2* во всех исследованных тканях, включая лимфоидную ткань, печень, легкие и почки, до очень низких уровней. Учитывая, что N-ацетилтрансфераза, являющаяся продуктом гена *NAT2*, отвечает за элиминацию ГСК, подавление транскрипции этого гена может усиливать токсические эффекты из-за потери фермента, его выводящего. Этот эффект подавления транскрипции гена, кодирующего *NAT2*, субстратом неизвестен из научной литературы.

Кроме того, ГСК подавил транскрипцию гена *HMGB1*, отвечающего за продукцию белка HMGB1, у мышей трансгенной линии NAT2 во всех исследованных тканях. HMGB1 обладает свойствами ядерного шаперона и отвечает в ядре клетки за множество процессов, от транскрипции генов до репарации ДНК [15]. В этом контексте подавление транскрипции HMGB1 гидразином является генотоксическим эффектом.

Еще одним генотоксическим эффектом является ингибирование транскрипции гена *SIRT1* в печени и легких, т.к. этот ген кодирует продукцию сиртуина 1, ядерной гистоновой деацетилазы III класса, модулирующей активность транскрипционных факторов, в частности ядерного фактора kB (NF-kB) [23], и гистонов H3 и H4 [24]. Известно, что SIRT1 подавляет активацию NF-kB, тем самым снижая воспаление в тканях [21]. В этом контексте подавление ГСК транскрипции SIRT1 в печени хорошо согласуется с известной гепатотоксичностью гидразинов [11].

Хотя ранее считалось, что NAT2 не имеет эндогенных субстратов, в 2020 г. был выявлен целый ряд таких эндогенных субстратов, основным из которых является полиамин спермидин [12], который играет важную роль в фундаментальных клеточных процессах, таких как пролиферация, экспрессия генов, аутофагия, снижение воспаления и реакция на стресс [17]. Спермидин является важнейшим активатором окислительного фосфорилирования и усилителем иммунного ответа Т-клеток [10]. Механизм усиления иммунного ответа включает конъюгацию спермидина с митохондриальным трифункциональным белком [10], который прикреплен к внутренней мембране митохондрий и катализирует три из четырех стадий β-окисления жирных кислот, поставляя восстановительные эквиваленты в респираторную цепь митохондрий через физическую ассоциацию с ком-

плексом I митохондрий [22]. Эта конъюгация ведет к повышению биоэнергетики Т-клеток в терминах поглощения кислорода и синтеза АТФ и значимому усилению митохондриального метаболизма [10]. NAT2 ацетилирует спермидин, являясь отрицательным регулятором метаболических и иммунных эффектов спермидина. Снижение транскрипции гена *NAT2* в ответ на действие ГСК, выявленное в настоящей работе, указывает на еще один токсический эффект, вызванный его действием на регуляцию метаболизма и клеточного иммунного ответа.

Выводы

Настоящая работа впервые показывает, что трансгенные гуманизированные мыши линии NAT2 пригодны для моделирования основных токсических эффектов класса гидразинов. Модель чрезвычайно чувствительна к токсичности гидразина. ГСК подавляет транскрипцию гена *NAT2* во всех исследованных тканях, включая лимфоидную ткань, печень, легкие и почки, до очень низких уровней, что усиливает токсические эффекты ГСК из-за потери фермента, его выводящего. Ингибирование ГСК транскрипции гена *HMGB1*, отвечающего за продукцию ядерного белка-шаперона, моделирует токсикогенетические эффекты гидразина, связанные с транскрипцией генов и репарацией поврежденной ДНК. Ингибирование транскрипции гена *SIRT1*, отвечающего за модуляцию активности широкого ряда транскрипционных факторов, включая NF-kB, и гистонов, моделирует токсикогенетические эффекты гидразина, связанные с воспалением, в частности, хорошо известный эффект гепатотоксичности, ограничивающий применение производных гидразина в качестве лекарственных средств.

Полученная фармакогенетическая экстраполяционная платформа позволяет прогнозировать и осуществлять направ-

ленный скрининг средств, влияющих на N-ацетилтрансферазные механизмы с помощью трансгенных линий мышей линии NAT2, а также определять различия в действии быстрых и медленных ацетиляторов в отношении субстратов NAT2.

Настоящая работа показывает, что исследование и скрининг новых перспективных производных гидразина, применяемых в фармации и промышленности, целесообразно проводить на трансгенных мышках гуманизированной линии NAT2.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Бугаев П.А., Антушевич А.Е., Рейнюк В.Л., Башарин В.А., Зацепин В.В. Гидразин и его производные: токсикологическая характеристика. Сетевое научное издание. *Современные проблемы науки и образования*. 2017;4. [Bugaev P.A., Antushevich A.E., Reinyuk V.L., Basharin V.A., Zatsepin V.V. [Gidrazin i ego proizvodniye: toksikologicheskaya harakteristika [Hydrazine and its derivatives: toxicological characteristics]. *Setevoye nauchnoye izdaniye. Sovremenniyе problemy nauki i obrazovaniya* [Network scientific publication. Modern problems of science and education]. 2017;4. (In Russian)].
2. Казаков А.В. Оптимизация гепатопротективной терапии у больных туберкулезом органов дыхания с учетом оценки генетического полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с помощью биологических чипов: дис. ... д.м.н. М.: ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), 2021:176. [Kazakov A.V. Optimizatsiya gepatoprotektivnoy terapii u bolnykh tuberkulezom organov dykhaniya s uchetom otsenki geneticheskogo polimorfizma genov fermentov biotransformatsii ksenobiotikov s pomoshchyu biologicheskikh chipov [Optimization of Hepatoprotective Therapy in Patients with Respiratory Tuberculosis, Taking into Account the Assessment of Genetic Polymorphism of Xenobiotic Biotransformation Enzyme Genes Using Biological Chips]. *Dissertation ... Dr. Sci. (Med.)*. Moscow: I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russian Federation (Sechenov University), 2021:176. (In Russian)].
3. Каркищенко В.Н., Дуля М.С., Хвостов Д.В., Петрова Н.В., Пронина Г.И., Корягина Н.Ю., Ревякин А.О. Регуляция активности систем ацетилирования в процессах канцерогенеза: от фенотипа к эпигенетике. *Биомедицина*. 2016;4:4–21. [Karkischenko V.N., Dulya M.S., Khvostov D.V., Petrova N.V., Pronina G.I., Koryagina N.Yu. [Regulyaciya aktivnosti sistem acetilirovaniya v processah kancerogeneza: ot fenotipa k epigenetike [Regulation of acetylation system activity in carcinogenesis: from phenotype to epigenetics]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2016;4:4–21. (In Russian)].
4. Каркищенко В.Н., Рябых В.П., Каркищенко Н.Н., Дуля М.С., Езерский В.А., Колоскова Е.М., Лазарев В.Н., Максименко С.В., Петрова Н.В., Столярова В.Н., Трубицина Т.П. Молекулярно-генетические аспекты технологии получения трансгенных мышей с интегрированными генами N-ацетилтрансферазы (NAT1 и NAT2) человека. *Биомедицина*. 2016;1:4–17. [Karkischenko V.N., Ryabykh V.P., Karkischenko N.N., Dulya M.S., Ezer-skiy V.A., Koloskova E.M., Lazarev V.N., Maksimenko S.V., Petrova N.V., Stolyarova V.N., Trubitsyna T.P. [Molekulyarno-geneticheskie aspekty tehnologii polucheniya transgennih mishey s integrirovannymi genami N-acetiltransferazy (NAT1 i NAT2) cheloveka [Molecular and genetic aspects of the technology for producing transgenic mice with integrated human N-acetyltransferase (NAT1 and NAT2) genes]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2016;1:4–17. (In Russian)].
5. Каркищенко Н.Н., Капанадзе Г.Д., Петрова Н.В. Новая модель оценки избирательной токсичности антибластных средств на трансгенных мышках с генами Nat1hom человека. *Биомедицина*. 2015;3:4–19. [Karkischenko N.N., Kapanadze G.D., Petrova N.V. Novaya model ocenki izbiratelnoy toksichnosti antiblastomnyh sredstv na transgennyh myshah s genami Nat1hom cheloveka [New Model for Assessing the Selective Toxicity of Antineoplastic Agents on Transgenic Mice with Human Nat1hom Genes]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2015;3:4–19. (In Russian)].
6. Каркищенко Н.Н., Рябых В.П., Каркищенко В.Н., Колоскова Е.М. Создание гуманизированных мышей для фармакотоксикологических исследований (успехи, неудачи и перспективы). *Биомедицина*. 2014;3:4–22. [Karkischenko N.N., Ryabykh V.P., Karkischenko V.N., Koloskova E.M. Sozdanie humanizirovannyh myshej dlya farmakotoksikologicheskikh issledovaniy (uspehi, neudachi i perspektivy) [Creation of humanized mice for pharmacotoxicological research (successes, failures, and prospects)]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2014;3:4–22. (In Russian)].
7. Краснова Н.М., Николаев В.М. Изониазид-индуцированное поражение печени: фармакогенетические аспекты. *Российский журнал персонализированной медицины*. 2022;2(3):38–51. [Krasnova N.M., Nikolaev V.M. Isoniazid-inducirovannoye porazhenie

- pecheni: farmakogeneticheskie aspekty [Isoniazid-induced liver damage: pharmacogenetic aspects]. *Russian J. of Personalized Medicine*. 2022;2(3):38–51. (In Russian)].
8. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. Под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль-2С, 2010:358. [*Rukovodstvo po laboratornym zhivotnym i al'ternativnym modelyam v biomeditsinskikh issledovaniyakh* [Guide to Laboratory Animals and Alternative Models in Biomedical Research]. Ed. by N.N. Karkischenko, S.V. Grachev. Moscow: Profil-2C Publ., 2010:358. (In Russian)].
 9. Степанова О.И., Клёсов Р.А., Семёнов Х.Х., Помыткин И.А., Каркищенко В.Н. Новый диагностический подход для оценки тканевых изменений при сахарном диабете типа 2 у мышей с помощью прибора «ЛАЗМА СТ». *Биомедицина*. 2022;18(3):37–44. [Stepanova O.I., Klesov R.A., Semenov Kh.Kh., Pomytkin I.A., Karkischenko V.N. Noviy diagnosticheskij podhod dlya ocenki tkanevyh izmenenij pri saharnom diabete tipa 2 u mishey s pomoshchyu pribora «LAZMA ST» [A new diagnostic approach for assessing tissue changes in type 2 diabetes mellitus in mice using the LASMA ST device]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2022;18(3):37–44. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-18-3-37-44.
 10. Al-Habshi M., Chamoto K., Matsumoto K., Nomura N., Zhang B., Sugiura Y., Sonomura K., Maharani A., Nakajima Y., Wu Y., Nomura Y., Menzies R., Tajima M., Kitaoka K., Haku Y., Delghandi S., Yurimoto K., Matsuda F., Iwata S., Ogura T., Fagarasan S., Honjo T. Spermidine activates mitochondrial trifunctional protein and improves antitumor immunity in mice. *Science*. 2022;378(6618):eabj3510. DOI: 10.1126/science.abj3510.
 11. Badrinath M., Chen R.J., John S. Isoniazid Toxicity. *StatPearls Publ.*, 2025.
 12. Conway L.P., Rendo V., Correia M.S.P., Bergdahl I.A., Sjöblom T., Globisch D. Unexpected Acetylation of Endogenous Aliphatic Amines by Arylamine N-Acetyltransferase NAT2. *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 2020;59(34):14342–14346. DOI: 10.1002/anie.202005915.
 13. Gutiérrez-Virgen J.E., Piña-Pozas M., Hernández-Tobias E.A., Taja-Chayeb L., López-González M.L., Meraz-Ríos M.A., Gómez R. NAT2 global landscape: Genetic diversity and acetylation statuses from a systematic review. *PLoS One*. 2023;18(4):e0283726. DOI: 10.1371/journal.pone.0283726.
 14. Hein D.W., Millner L.M. Arylamine N-acetyltransferase acetylation polymorphisms: paradigm for pharmacogenomic-guided therapy- a focused review. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2021;17(1):9–21. DOI: 10.1080/17425255.2021.1840551.
 15. Kang R., Chen R., Zhang Q., Hou W., Wu S., Cao L., Huang J., Yu Y., Fan X.G., Yan Z., Sun X., Wang H., Wang Q., Tsung A., Billiar T.R., Zeh H.J. 3rd, Lotze M.T., Tang D. HMGB1 in health and disease. *Mol. Aspects Med*. 2014;40:1–116.
 16. Kolenc O.I., Quinn K.P. Evaluating Cell Metabolism Through Autofluorescence Imaging of NAD(P)H and FAD. *Antioxid Redox Signal*. 2019;30(6):875–889. DOI: 10.1089/ars.2017.7451.
 17. Madeo F., Eisenberg T., Pietrocola F., Kroemer G. Spermidine in health and disease. *Science*. 2018;359(6374):eaan2788. DOI: 10.1126/science.aan2788.
 18. Mahajan R., Tyagi A.K. Pharmacogenomic insights into tuberculosis treatment shows the NAT2 genetic variants linked to hepatotoxicity risk: a systematic review and meta-analysis. *BMC Genom Data*. 2024;25(1):103. DOI: 10.1186/s12863-024-01286-y.
 19. Sim E., Abuhammad A., Ryan A. Arylamine N-acetyltransferases: from drug metabolism and pharmacogenetics to drug discovery. *Br. J. Pharmacol*. 2014;171(11):2705–2725. DOI: 10.1111/bph.12598.
 20. Teixeira S., Castanheira E.M.S., Carvalho M.A. Hydrazides as Powerful Tools in Medicinal Chemistry: Synthesis, Reactivity, and Biological Applications. *Molecules*. 2025;30(13):2852. DOI: 10.3390/molecules30132852.
 21. Wang M., Zhao J., Chen J., Long T., Xu M., Luo T., Che Q., He Y., Xu D. The role of sirtuin1 in liver injury: molecular mechanisms and novel therapeutic target. *PeerJ*. 2024;12:e17094. DOI: 10.7717/peerj.17094.
 22. Wang Y., Mohsen A.W., Mihalik S.J., Goetzman E.S., Vockley J. Evidence for physical association of mitochondrial fatty acid oxidation and oxidative phosphorylation complexes. *J. Biol. Chem*. 2010;285(39):29834–29841. DOI: 10.1074/jbc.M110.139493.
 23. Yang Y., Liu Y., Wang Y., Chao Y., Zhang J., Jia Y., Tie J., Hu D. Regulation of SIRT1 and Its Roles in Inflammation. *Front Immunol*. 2022;13:831168. DOI: 10.3389/fimmu.2022.831168.
 24. Yang Y., Peng W., Su X., Yue B., Shu S., Wang J., Fu C., Zhong J., Wang H. Epigenomics Analysis of the Suppression Role of SIRT1 via H3K9 Deacetylation in Preadipocyte Differentiation. *Int. J. Mol. Sci*. 2023;24(14):11281. DOI: 10.3390/ijms241411281.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Петрова Наталья Владимировна*, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: 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

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

e-mail: niknik2808@yandex.ru

Nikolay N. Karkischenko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the Russian Academy of Rocket and Artillery Sciences, Corr. 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

Клёсов Роман Алексеевич, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

e-mail: klesrom@mail.ru

Roman A. Klesov, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: klesrom@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ И КОРРЕКЦИИ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ИЗОНИАЗИДА НА ГУМАНИЗИРОВАННЫХ ТРАНСГЕННЫХ МЫШАХ NAT2

Н.В. Петрова*, Н.Н. Каркищенко, И.А. Помыткин, В.В. Слободенюк,
С.Б. Курашев, М.А. Савина

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

Настоящая работа показывает, что исследования и скрининг новых, перспективных средств, применяемых в фармации и промышленности, целесообразно проводить на трансгенных мышах гуманизированной линии NAT2. Показано, что изониазид индуцирует транскрипцию гена *NAT2^{hmt}*, кодирующего N-ацетилтрансферазу 2, инактивирующую изониазид. Изониазид индуцирует транскрипцию гена *NAT2^{mus}*, кодирующего N-ацетилтрансферазу, сходную с NAT1 человека, инактивирующую экзогенные биоактивные амины, подавляет транскрипцию гена *SIRT1*, кодирующего ядерную деацетилазу III класса, в мозге и почках, причем Лейтрагин, активатор транскрипции гена *SIRT1*, только частично снижает эффект изониазида. Изониазид влияет на транскрипцию гена *TNF-α* в зависимости от типа ткани.

Ключевые слова: гуманизированные трансгенные линии мышей, изониазид, экспрессия генов *NAT2*, *NAT2^{mus}*, *SIRT1*, *TNF-α*

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Петрова Н.В., Каркищенко Н.Н., Помыткин И.А., Слободенюк В.В., Курашев С.Б., Савина М.А. Фармакологический анализ механизмов действия и коррекции токсических эффектов изониазида на гуманизированных трансгенных мышах NAT2. *Биомедицина*. 2026;22(1):38–47. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-38-47>

Поступила 12.01.2026

Принята после доработки 16.02.2026

Опубликована 30.04.2026

PHARMACOLOGICAL ANALYSIS OF THE MECHANISMS OF ACTION AND CORRECTION OF ISONIAZID-INDUCED TOXICITY IN NAT2-HUMANIZED TRANSGENIC MICE

Natalia V. Petrova*, Nikolay N. Karkischenko, Igor A. Pomytkin, Vladimir V. Slobodenyuk,
Sergej B. Kurashev, Mariya A. Savina

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 study demonstrates that NAT2-humanized mice are an effective biomodel for the research and screening of promising new drugs in pharmacy and industry. We show that isoniazid induces the transcription of the human *NAT2* gene, which encodes N-acetyltransferase 2 (the enzyme responsible for isoniazid inactivation). Isoniazid also induces transcription of the mouse *NAT2* gene, which encodes an N-acetyltransferase similar to human NAT1 that inactivates exogenous bioactive amines. Furthermore, isoniazid inhibits the transcription of the *SIRT1* gene (encoding a class III nuclear deacetylase) in the brain and kid-

neys. Notably, *Leytragin* (*SIRT1* transcription activator) only partially mitigates the effect of isoniazid. Finally, isoniazid affects *TNF-α* gene transcription depending on the type of tissue.

Keywords: humanized mouse lines, isoniazid, gene expression, *NAT2*, *SIRT1*, *TNF-α*

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

For citation: Petrova N.V., Karkischenko N.N., Pomytkin I.A., Slobodenyuk V.V., Kurashov S.B., Savina M.A. Pharmacological Analysis of the Mechanisms of Action and Correction of Isoniazid-induced Toxicity in NAT2-humanized Transgenic Mice. *Journal Biomed.* 2026;22(1):38–47. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-38-47>

Submitted 12.01.2026

Revised 16.02.2026

Published 30.04.2026

Введение

Изониазид — это антибактериальный препарат, который является основным и наиболее эффективным средством для лечения туберкулеза, а также для его профилактики. Данный препарат относится к группе гидразидов изоникотиновой кислоты и показан при лечении всех форм активного туберкулеза в комбинации с другими противотуберкулезными препаратами, такими как рифампицин, пирразинамид, этамбутол, чтобы избежать развития устойчивости, нарушая синтез клеточной стенки микобактерий, особенно на стадии активного деления [4, 14]. Это один из первых противотуберкулезных препаратов, открытый в 1952 г. Его внедрение стало революцией в лечении туберкулеза, позволив перевести его из почти смертельного заболевания в контролируемое [4].

Изониазид нарушает синтез миколовых кислот, оказывая селективное бактериостатическое действие на неделящиеся микобактерии туберкулеза и бактерицидное влияние на микроорганизмы в стадии размножения. К сожалению, применение изониазида сопряжено с развитием таких нежелательных побочных реакций, как нейротоксичность, гепатотоксичность, угнетение кроветворения [12]. Гепатотоксические реакции становятся ведущей причиной отмены препарата, что значительно уменьшает эффективность противотуберкулезной тера-

пии, повышает риск рецидива заболевания и способствует формированию вторичной лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза [8, 18].

Изониазид — это краеугольный камень современной противотуберкулезной терапии, препарат первой линии, без которого практически невозможно эффективное лечение туберкулеза. Его приём должен строго контролироваться врачом из-за возможных серьезных побочных эффектов.

Широкое клиническое применение изониазида сопряжено с двумя фундаментальными проблемами. Во-первых, это исключительно быстрое развитие лекарственной устойчивости, вплоть до 70% случаев как при монотерапии, так и в комбинированных схемах лечения [2]. Формирование множественной и широкой лекарственной устойчивости является ключевым фактором, ограничивающим эффективность терапии. Во-вторых, препарат характеризуется серьезными нежелательными реакциями, среди которых ведущее место занимает гепатотоксичность.

Важнейшим фактором, определяющим эффективность и безопасность изониазида, является индивидуальная вариабельность его метаболизма у пациентов. Скорость биотрансформации препарата в значительной степени зависит от генетически детерминированной активности фермента N-ацетилтрансферазы 2 (*NAT2*).

Полиморфизм гена *NAT2* определяет индивидуальные различия фармакокинетики изониазида и идентифицирован как фактор риска гепатотоксичности этого лекарственного средства [9, 12, 19, 21].

В 1995 г. в работах Bell и соавт. выявлены полиморфизмы в гене *NAT2*, которые, как было показано, существенно влияют на экспрессию, стабильность и каталитическую активность фермента. Основываясь на этих полиморфизмах, индивидуумы могут быть классифицированы как быстрые ацетиляторы, промежуточные ацетиляторы и медленные ацетиляторы [5, 7, 17]. У медленных ацетиляторов после приема изониазида в стандартных дозах его концентрация в плазме в 4–6 раз выше, чем в плазме быстрых ацетиляторов [8, 15, 20]. Установлены положительные корреляционные связи между медленным фенотипом ацелирования изониазида и высокой частотой развития гепатотоксических реакций. Низкая концентрация изониазида в плазме быстрых ацетиляторов ассоциируется с неудачей лечения туберкулеза и ростом лекарственной устойчивости микобактерий [16]. *NAT2* является ключевым ферментом детоксикации II фазы, который катализирует перенос ацетильных групп от ацетил-КоА к ароматическим и гетероциклическим аминам, играя решающую роль в активации и/или инактивации изониазида, а также в метаболизме различных лекарственных средств. *NAT2* экспрессируется в эпителии нескольких органов, включая пищевод, желудок, тонкую кишку, толстую кишку и мочевой пузырь, причем эпителиальные клетки печени и кишечника являются основными участками экспрессии.

Концентрации изониазида в плазме крови значительно различаются у лиц с различными фенотипами ацелирования при введении одной и той же дозы внутривенно вводимых препаратов. В Китае рекомендуемая доза внутривенно вводимых препаратов обычно составляет от 300 до 600 мг/сут.

Оптимальная клиническая доза изониазида остается спорной. Стандартная доза изониазида для взрослых обычно не превышает 300 мг/сут. Однако предыдущие исследования показывают, что увеличение дозы до 600–900 мг/сут может повысить эффективность лечения и снизить риск развития лекарственно-устойчивого туберкулеза [3]. Подбор дозы изониазида на основе полиморфизма гена *NAT2* может оптимизировать схемы лечения, потенциально сводя к минимуму неудачи лечения и побочные эффекты [10, 11].

Таким образом, традиционный подход к дозированию изониазида без учета индивидуальных генетических особенностей пациента представляется недостаточно оптимизированным. Современные исследования указывают на перспективу персонализации терапии на основе фармакогенетического тестирования полиморфизма гена *NAT2*.

Индивидуальный подбор дозы, учитывающий фенотип ацелирования, рассматривается как стратегия, позволяющая максимизировать клиническую эффективность лечения, минимизировать риск серьезных побочных эффектов и потенциально противостоять развитию лекарственной устойчивости. Изучение взаимосвязи между генотипом *NAT2*, фармакокинетикой изониазида и исходами терапии является актуальной задачей для повышения рациональности и безопасности противотуберкулезной химиотерапии.

Кроме этого, в недавних исследованиях было показано, что изониазид (как противотуберкулезный препарат) показал эффективность в улучшении когнитивных функций и уменьшении амилоидных бляшек (основной патологический признак болезни Альцгеймера — БА) в моделях на животных. Это позволяет считать его кандидатом в препараты для лечения БА [6]. При этом сниженная экспрессия мышшиного *mNAT1* / человеческого *hNAT2* способству-

ет метаболическим нарушениям в церебромикроваскулярной системе при БА [22]. Соединение этих фактов дает возможность вести поиск новых механизмов действия изониазида. Так, изониазид является известным субстратом и ингибитором NAT2, а NAT2, в свою очередь, — это фермент, участвующий в детоксикации и метаболизме различных соединений (фаза II метаболизма ксенобиотиков), и при БА, согласно исследованиям, активность NAT2 снижена, что может способствовать накоплению токсичных веществ, нарушению метаболизма нейромедиаторов (например, дофамина, серотонина, которые также являются субстратами NAT) и дисфункции гематоэнцефалического барьера, то следует вести работу по созданию минимизации ингибирования и/или восстановления активности NAT2.

В то же время, снижая активность NAT2 при БА в мозге / цереброваскулярной системе, изониазид, являясь субстратом NAT2, может «отвлекать» на себя остаточную активность фермента, возможно, изменяя баланс эндогенных метаболитов, что может оказывать парадоксально положительный, нормализующий эффект (например, через компенсаторные механизмы или альтернативные пути детоксикации). В результате чего улучшается церебральный метаболизм, снижается образование амилоидных бляшек и улучшаются когнитивные функции.

Новый взгляд на старый препарат дает возможность осуществления идеи перефилирования лекарств — поиска новых применений для уже известных и одобренных препаратов. Это может значительно ускорить доклиническую разработку. Безусловно, требуется осуществление дальнейших масштабных исследований для подтверждения механизма (действительно ли эффект изониазида опосредован через NAT2), определения оптимальной дозировки и, в конечном итоге, проведения клинических испытаний на пациентах с БА.

Это направление требует глубокого изучения, но представляет собой обоснованную научную гипотезу для поиска новых методов лечения и моделей изучения.

Таким образом, это затрагивает тему, которая лежит на стыке нейробиологии, фармакогенетики и персонализированной медицины, демонстрируя, как фундаментальные исследования могут открывать новые возможности для старых препаратов и одновременно указывать на необходимость решения давних проблем их безопасности.

Цель работы — оценить возможность применения трансгенных гуманизированных животных-биомodelей линии NAT2 в доклинических биомедицинских исследованиях токсического действия изониазида.

Материалы и методы

Материалы

Набор РНК-экстрактан для извлечения РНК был приобретён в ООО «Синтол» (Россия). Набор РЕВЕРТА-L для синтеза кДНК был получен от ООО «АмплиСенс» (Россия). Специфические праймеры и зонды для генов *NAT2*, *NAT1*, *SIRT1mus*, *HMGB1mus* были синтезированы ЗАО «Синтол» (Россия) на основе последовательностей, представленных ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

Лабораторные животные

Исследования проводились в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России на самцах трансгенных гуманизированных мышей линии NAT2 (n=12) собственного производства. Возраст животных — 10–12 недель, средняя масса — $20 \pm 2,0$ г. Животные были отобраны в эксперимент методом рандомизации. Мышей содержали в микроизоляторной системе Rair Iso System по 6 особей в группе. Животные соответствовали категории улучшенных конвенциональных. В качестве рациона мыши получали стандартный комбикорм гранулированный полнорационный для лабораторных животных (экструдированный) ПК-120 ГОСТ Р 51849-

2001 P.5. Водопроводная очищенная вода всем животным давалась *ad libitum* в стандартных поилках. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды при температуре воздуха 18–22°C, относительной влажности 60–70% и искусственном освещении с циклом 12/12.

Исследования проводились в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета о защите животных, используемых в научных целях от 22.09.2010; Базельской декларацией (2011); ГОСТ 53434-2009 от 02.12.2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)»; Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств»; Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов»; Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [1]. Все эксперименты были одобрены биоэтической комиссией ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

Группы и введение препаратов

Для исследования токсического системного действия изониазида и пути коррекции его Лейтрагином были рандомно сфор-

мированы три группы: интакт, контроль (введение физ. р-ра + изониазид) и опыт (введение Лейтрагина). Схема исследования представлена на рис. 1. Лейтрагин вводился подкожно в дозе 0,1 мг/кг в объеме 100 мкл, физ. р-р вводился в аналогичном объеме. Изониазид вводился внутривенно в дозе 100 мг/кг. Через 120 мин после начала исследования животные умерщвлялись дислокацией шейных позвонков, извлекались ткани органов (печени, почек, мозга) и помещались в пробирки типа Eppendorf. Хранение образцов до проведения полимеразной цепной реакции в реальном времени (РВ-ПЦР) осуществлялось в морозильной камере при -80°C.

ПЦР в реальном времени

Общую РНК экстрагировали из образцов с помощью набора «РНК-экстран» («Синтол», Россия) и переводили в комплементарную ДНК с помощью набора «РЕВЕРТА-Л» («АмплиСенс», Россия) в соответствии с инструкциями производителей. В качестве референсного гена был выбран ген *GAPDH*. Уровни транскрипции генов *NAT2hom* и *NAT2mus*, *TNF- α mus*, *Sirt1mus* в исследуемых пробах определяли с помощью амплификатора CFX-96 («BioRad», США) с использованием специфических праймеров и флуоресцентных зондов, указанных в таблице.

Результаты измерений представляли как кратное изменение уровней мРНК целевого гена.

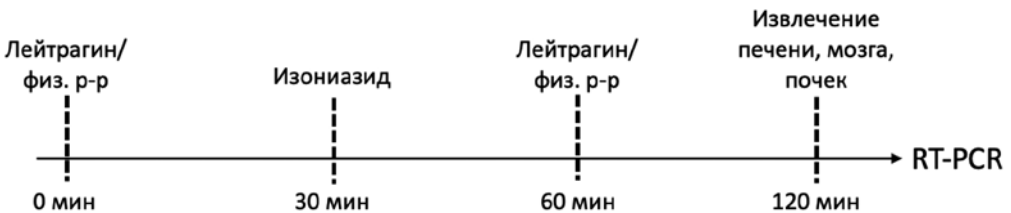


Рис. 1. Схема исследования.

Fig. 1. Experimental design.

Таблица. Олигонуклеотидные праймеры и зонды
Table. Oligonucleotide primers and PCR probes

Ген	Праймер / Зонд	Нуклеотидная последовательность
<i>TNF-αmus</i>	F R Z	5'-TCTGTCTCTCACCTGCTCTG-3' 5'-GGTTCTCAGATGTGTACGA-3' ROX-GAATGGATGGGCTACATAAGTTACG-BHQ2
<i>NAT2hom</i>	F R Z	5-GGT TTA CTG TTT GGT GGG CT-3 5-CAG GTT TGG GCA CGA GAT TT-3 R6G- CT GAG GAA GAG GTT GAA GAA GTG CT -BHQ2
<i>SIRT1mus</i>	F R Z	5'-TCCTTGGAGACTGCGATGTT-3' 5'-ATGAAGAGGTGTTGGTGGCA-3' ROX-TGAGTTGTGTGCATAGGCTAGGTGGT-BHQ2
<i>NAT2mus</i>	F R Z	5'-TTGTGAGGAAGAAGCGGGGT-3' 5'-TGTCAAACGGAAGATGGCAG-3' FAM-GTTAATCATCTGCTGTACTGGGCTC-BHQ

Результаты и их обсуждение

Влияние изониазида на транскрипцию генов *NAT2 hom* , *NAT2 mus* , *SIRT1 mus* и *TNF- α mus* у мышей трансгенной гуманизированной линии NAT2 показано на рис. 2–5.

Изониазид статистически значимо и многократно (45–150 раз) повышал транскрипцию гена *NAT2 mus* во всех исследованных тканях. Кроме того, изониазид значимо и многократно (12 раз) повышал транскрипцию гена *NAT2 hom* в печени, основном сайте действия фермента NAT2 hom , инактивирующего изониазид. Таким обра-

зом, введение изониазида индуцирует транскрипцию N-ацетилтрансфераз, инактивирующих ксенобиотики, и, что важно, *NAT2 hom* в печени, где и происходит основной процесс инактивации изониазида.

Статистически значимое повышение (1,5–2 раза) транскрипции *NAT2 hom* также происходит в мозге и почках, дополнительных сайтах выведения изониазида.

Изониазид статистически значимо и многократно подавляет транскрипцию гена *SIRT1 mus* , кодирующего ядерную деацетилазу III класса, в мозге и почках. С учетом

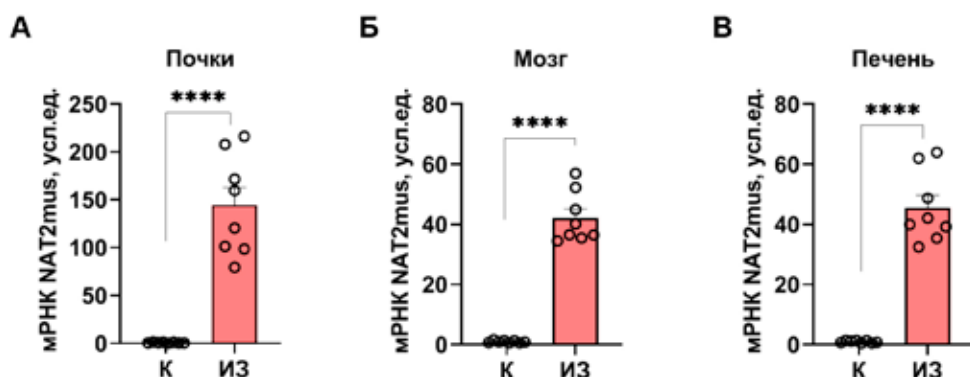


Рис. 2. Влияние изониазида (ИЗ) на уровни мРНК *NAT2 mus* в почках (А), мозге (Б) и печени (В) мышей трансгенной гуманизированной линии NAT2. **** — $p < 0,0001$ по сравнению с контролем (К) (непарный двусторонний t -тест Стьюдента, $n=8$).

Fig. 2. Effect of isoniazid (I3) on *Nat2* mRNA levels in the kidneys (A), brain (B), and liver (B) of NAT2-humanized mice. **** — $p < 0.0001$ compared to control (K) (unpaired two-tailed Student's t -test, $n=8$).

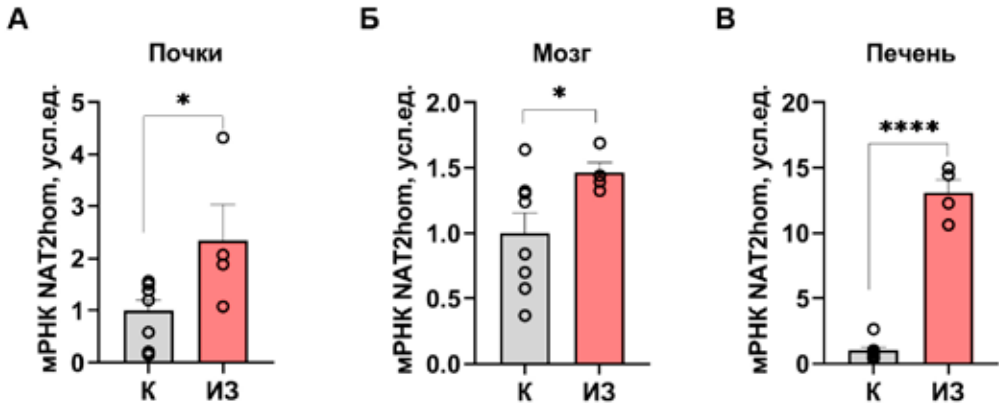


Рис. 3. Влияние изониазида (ИЗ) на уровни мРНК NAT2hот в почках (А), мозге (Б) и печени (В) мышей трансгенной гуманизированной линии NAT2. * — $p < 0,05$ и **** — $p < 0,0001$ по сравнению с контролем (К) (непарный двусторонний t-тест Стьюдента, $n=5-8$).

Fig. 3. Effect of isoniazid (ИЗ) on human NAT2 mRNA levels in the kidneys (А), brain (Б), and liver (В) of NAT2-humanized mice. * — $p < 0.05$ and **** — $p < 0.0001$ compared to control (К) (unpaired two-tailed Student's t-test, $n=5-8$).

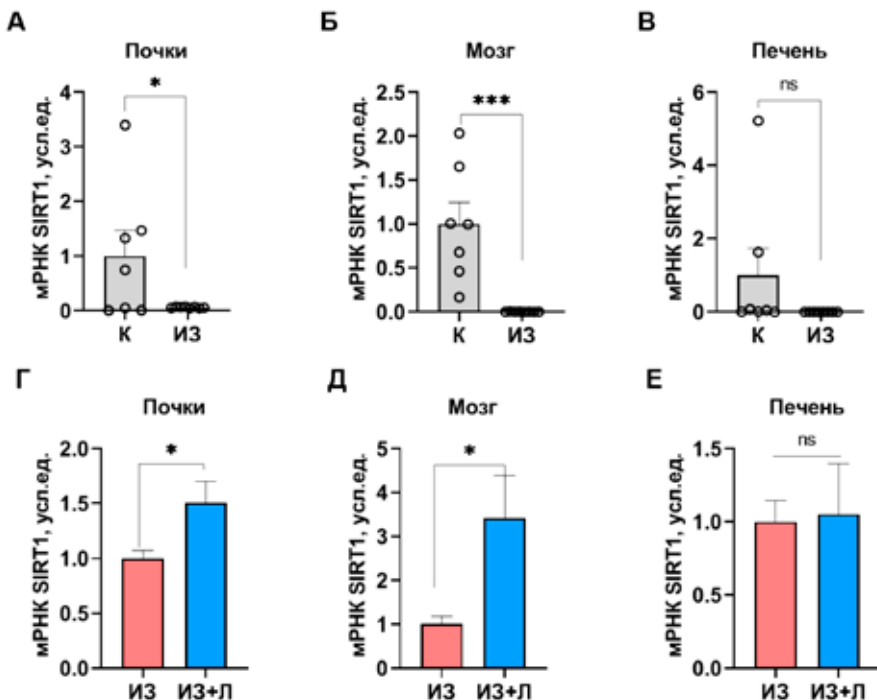


Рис. 4. Влияние изониазида (ИЗ) и Лейтрагина (ИЗ+Л) на уровни мРНК SIRT1tus в почках (А, Г), мозге (Б, Д) и печени (В, Е) мышей трансгенной гуманизированной линии NAT2. * — $p < 0,05$ и *** — $p < 0,001$ по сравнению с контролем (К) или изониазидом (непарный двусторонний t-тест Стьюдента, $n=8$).

Fig. 4. Effect of isoniazid (ИЗ) and Leutragin (ИЗ+Л) on SIRT1 mRNA levels in the kidneys (А, Г), brain (Б, Д), and liver (В, Е) of NAT2-humanized mice. * — $p < 0.05$ and *** — $p < 0.001$ compared to control (К) or isoniazid (unpaired two-tailed Student's t-test, $n=8$).

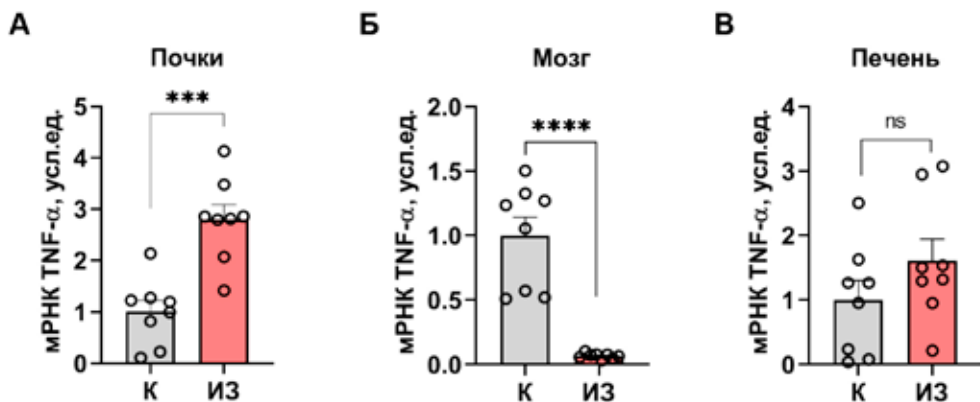


Рис. 5. Влияние изониазида (ИЗ) на уровни мРНК *TNF-α* в почках (А), мозге (Б) и печени (В) мышей трансгенной гуманизированной линии NAT2. *** — $p < 0,001$ и **** — $p < 0,0001$ по сравнению с контролем (К) (непарный двусторонний *t*-тест Стьюдента, $n=8$).

Fig. 5. Effect of isoniazid (ИЗ) on *TNF-α* mRNA levels in the kidneys (А), brain (Б), and liver (В) of NAT2-humanized mice. *** — $p < 0.001$ and **** — $p < 0.0001$ compared to control (К) (unpaired two-tailed Student's *t*-test, $n=8$).

известной роли *SIRT1* полученный результат указывает на токсическое действие изониазида в отношении метаболических процессов в клетках. Введение Лейтрагина, активатора транскрипции гена *SIRT1*, только частично, хотя и статистически значимо, повышает подавленную изониазидом транскрипцию гена *SIRT1* *mus*.

Эффект изониазида на транскрипцию гена *TNF-α* *mus*, кодирующего провоспалительный фактор некроза опухоли α (TNF- α), зависит от типа ткани. Изониазид статистически значимо повышает уровни мРНК *TNF-α* *mus* в почках, снижает в мозге и не влияет на уровни мРНК *TNF-α* *mus* в печени.

Выводы

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. Изониазид индуцирует транскрипцию гена *NAT2* *hom*, кодирующего N-ацетилтрансферазу 2, инактивирующую изониазид.

2. Изониазид индуцирует транскрипцию гена *NAT2* *mus*, кодирующего N-ацетилтрансферазу, сходную с NAT1 че-

ловека, инактивирующую экзогенные биоактивные амины.

3. Изониазид подавляет транскрипцию гена *SIRT1*, кодирующего ядерную деацетилазу III класса, в мозге и почках, причем Лейтрагин, активатор транскрипции гена *SIRT1*, только частично снижает эффект изониазида.

4. Изониазид влияет на транскрипцию гена *TNF-α* *mus* в зависимости от типа ткани.

Результаты разных исследований показывают, что мыши представляют собой адекватную систему для изучения полиморфизма N-ацетилтрансферазы, а также полезны для моделирования нескольких аспектов полиморфизма N-ацетилтрансферазы человека [13]. Созданная в НЦБМТ ФМБА России трансгенная гуманизированная линия мышей показывает характерные особенности действия токсикантов на человеческий ген *NAT2*, интегрированный в геном мыши. В настоящей работе впервые изучены эффекты изониазида как модельного токсиканта на транскрипцию ряда генов у мышей трансгенной линии NAT2.

Полученная фармакогенетическая экстраполяция платформа позволяет

прогнозировать и осуществлять направленный скрининг средств, влияющих на N-ацетилтрансферазные механизмы, а также определять различия в действии быстрых и медленных ацетиляторов в отношении субстратов NAT2.

Настоящая работа показывает, что исследования и скрининг новых, перспективных средств, применяемых в фармации и промышленности, целесообразно проводить на трансгенных мышах гуманизированной линии NAT2.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. Под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль-2С, 2010:358. [*Rukovodstvo po laboratornym zhyvotnym I alternativnym modelyam v biomeditsinskih issledovaniyah* [Guide to Laboratory Animals and Alternative Models in Biomedical Research]. Ed. by N.N. Karkischenko, S.V. Grachev. Moscow: Profil-2C Publ., 2010:358. (In Russian)].
2. Усов К.И., Гуськова Т.А., Юшков Г.Г., Машанов А.В., Игуменьшева В.В. Развитие токсикологической толерантности к изониазиду в условиях эксперимента. *Токсикологический вестник*. 2017;2:2–11. [Usov K.I., Guskova T.A., Yushkov G.G., Mashanov A.V., Igumenshcheva V.V. Razvitiye toksikologicheskoy tolerantsnosti k izoniazidu v usloviyakh eksperimenta [Development of toxicological tolerance to isoniazid under experimental conditions]. *Toksikologicheskii vestnik* [Toxicological bulletin]. 2017;2:2–11. (In Russian)].
3. Adole P.S., Kharbanda P.S., Sharma S. N-acetyltransferase 2 (NAT2) gene polymorphism as a predisposing factor for phenytoin intoxication in tuberculous meningitis or tuberculoma patients having seizures — A pilot study. *Indian J. Med. Res.* 2016;143:581–590. DOI: 10.4103/0971-5916.187106.
4. Bernstein J., Lott W.A., Steinberg B.A., Yale H.L. Chemotherapy of Experimental Tuberculosis. V. Isonicotinic Acid Hydrazide (Nydrazid) and Related Compounds. *American Review of Tuberculosis*, 1952;65(4):357–364. DOI: 10.1164/art.1952.65.4.357.
5. Bolt H.M., Selinski S., Dannappel D., Blaszkewicz M., Golka K. Re-investigation of the concordance of human NAT2 phenotypes and genotypes. *Arch. Toxicol.* 2005;79:196–200. DOI: 10.1007/s00204-004-0622-8.
6. Chen J., Guo N., Ruan Y., Mai Y., Liao W., Feng Y. Isoniazid improves cognitive performance, clears Aβ plaques, and protects dendritic synapses in APP/PS1 transgenic mice. *Front. Aging Neurosci.* 2023;15:1105095. DOI: 10.3389/fnagi.2023.1105095.
7. Hein D.W., Doll M.A., Fretland A.J., Leff M.A., Webb S.J., Xiao G.H., et al. Molecular genetics and epidemiology of the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000;9:29–42.
8. Imam F., Sharma M., Khayyam K.U., et al. Determination of isoniazid acetylation patterns in tuberculosis patients receiving DOT therapy under the Revised National tuberculosis Control Program (RNTCP) in India. *Saudi Pharm. J.* 2020;28(6):641–647. DOI: 10.1016/j.jpsps.2020.04.003.
9. Jarrar Y.B., Balasmeh A.A., Jarrar W. Sequence analysis of the N-acetyltransferase 2 gene (NAT2) among Jordanian volunteers. *Libyan J. Med.* 2018;13(1):1408381. DOI: 10.1080/19932820.2017.1408381.
10. Jian Y., Bao Y., Yang F., Zhu M. The role of isoniazid dosage and NAT2 gene polymorphism in the treatment of tuberculous meningitis. *Front. Immunol.* 2025;15:1535447. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1535447.
11. Jung J. Ah., Kim T.-E., Lee H., Jeong B.-H., Park H.Y., Jeon K., et al. A proposal for an individualized pharmacogenetic-guided isoniazid dosage regimen for patients with tuberculosis. *Drug Des. Devel. Ther.* 2015;9:5433–5438. DOI: 10.2147/DDDT.S87131.
12. Khan S., Mandal R.K., Elasmeh A.M., et al. Pharmacogenetic association between NAT2 gene polymorphisms and isoniazid induced hepatotoxicity: Trial sequence meta-analysis as evidence. *Biosci. Rep.* 2019;39(1):BSR20180845. DOI: 10.1042/BSR20180845.
13. Levy G.N., Martell K.J., DeLeon J.H., Weber W.W. Metabolic, molecular genetic and toxicological aspects of the acetylation polymorphism in inbred mice. *Pharmacogenetics*. 1992;2(5):197–206. DOI: 10.1097/00008571-199210000-00002.
14. McDermott W., Ormond L., Muschenheim C., Deuschle K., McCune R.M. Jr., Tompsett R. Pyrazinamide-Isoniazid in Tuberculosis. *Am. Review of Tuberculosis*. 1954;69(3):319–333. DOI: 10.1164/art.1954.69.3.319.
15. Metushi I., Utrecht J., Phillips E. Mechanism of isoniazid-induced hepatotoxicity: then and now. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2016;81(6):1030–1036. DOI: 10.1111/bcp.12885.
16. Mthiyane T., Millard J., Adamson J., et al. N-acetyltransferase 2 genotypes among Zulu-speaking South Africans and isoniazid and N-acetyl-isoniazid pharmacokinetics during antituberculosis treatment. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2020;64(4):e02376-19. DOI: 10.1128/AAC.02376-19.
17. Meyer U.A., Zanger U.M. Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1997;37:269–296. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.37.1.269.
18. Rens N.E., Uyl-de Groot C.A., Goldhaber-Fiebert J.D., et al. Cost-effectiveness of a phar-

- macogenomic test for stratified isoniazid dosing in treatment of active tuberculosis. *Clin. Infect. Dis.* 2020;6:ciz1212. DOI: 10.1093/cid/ciz1212.
19. Suvichapanich S., Fukunaga K., Zahroh H., et al. NAT2 ultraslow acetylator and risk of anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a genotype-based meta-analysis. *Pharmacogenet. Genomics.* 2018;28(7):167–176. DOI: 10.1097/FGC.0000000000000339.
20. Wang P., Pradhan K., Zhong X.-bo, Ma X. Isoniazid metabolism and hepatotoxicity. *Acta Pharm.* 2016;6(5):384–392. DOI: 10.1016/j.apsb.2016.07.014.
21. Zhang M., Wang S., Wilffert B., et al. The association between the NAT2 genetic polymorphisms and risk of DILI during anti-TB treatment: A systematic review and meta-analysis. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2018;84(12):2747–2760. DOI: 10.1111/bcp.13722.
22. Zou C., Miffin L., Hu Zh., Zhang T., Shan B., et al. Reduction of mNAT1/hNAT2 Contributes to Cerebral Endothelial Necroptosis and A β Accumulation in Alzheimer's Disease. *Cell Reports.* 2020;33(10):108447. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.108447.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Петрова Наталья Владимировна*, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: m-sklad@yandex.ru

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

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

Nikolay N. Karkischenko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the Russian Academy of Rocket and Artillery Sciences, Corr. 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

Помыткин Игорь Анатольевич, д.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: ipomytkin@mail.ru

Igor A. Pomytkin, Dr. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: ipomytkin@mail.ru

Слободенюк Владимир Владимирович, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: prof-v-iprim@mail.ru

Vladimir V. Slobodenyuk, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: prof-v-iprim@mail.ru

Курашев Сергей Борисович, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: barrat220@gmail.com

Sergej B. Kurashov, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: barrat220@gmail.com

Савина Мария Анатольевна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: graff22@mail.ru

Mariya A. Savina, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: graff22@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ И НЕЙРАЛЬНЫХ ЭКЗОСОМ НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И МЕТАБОЛИЗМ ДОФАМИНА У МЫШЕЙ С МОДЕЛЬЮ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА, ИНДУЦИРОВАННОЙ 1-МЕТИЛ-4-ФЕНИЛ-1,2,3,6-ТЕТРАГИДРОПИРИДИНОМ

М.М. Руденок^{1,*}, М.Г. Ратушняк¹, Е.И. Семенова¹, И.Н. Рыболовлев¹, С.А. Партевян¹,
М.В. Лукашевич¹, Д.А. Шапошникова¹, М.С. Нестеров², Д.А. Абаимов³,
П.А. Сломинский¹, М.И. Шадрина¹, А.Х. Алиева¹

¹ ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»
123182, Российская Федерация, Москва, пл. Академика Курчатова, 1

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

³ ФГБНУ «Российский центр неврологии и нейронаук»
125367, Российская Федерация, Москва, Волоколамское ш., 80

Болезнь Паркинсона (БП) представляет собой прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, ключевым патогенетическим проявлением которого является гибель дофаминергических нейронов чёрной субстанции и выраженное снижение уровня дофамина в стриатуме. Длительный скрытый доклинический период и невозможность прямого исследования процессов в головном мозге затрудняют анализ ранних этапов нейродегенерации и поиск эффективных терапевтических подходов. В последние годы растёт интерес к экзосомам, секретлируемым стволовыми клетками, — внеклеточным везикулам, способным переносить биологически активные молекулы и преодолевать гематоэнцефалический барьер. Однако их влияние на изменения в функционировании дофаминергической системы при БП изучено недостаточно. В настоящей работе оценено действие экзосом, выделенных из культуральной среды, кондиционированной нейральными (НСК) и мезенхимальными (МСК) стволовыми клетками мыши, на двигательную активность и метаболизм дофамина в стриатуме при моделировании ранней симптомной стадии БП, индуцированной 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином (МФТП). Анализ поведения мышей в тесте «Открытое поле» показал, что введение МФТП вызывает изменения двигательной активности, соответствующие ранним паркинсон-подобным нарушениям. Интраназальное введение экзосом частично нормализовало параметры поведения, причём экзосомы МСК оказывали более выраженное влияние на двигательную активность. Биохимический анализ показал снижение уровня дофамина и его метаболитов (диоксифенилуксусная кислота (ДОФУК), 3-метокситирамин (3-МТ), гомованилиновая кислота (ГВК)) после введения МФТП. Экзосомы обоих типов частично предотвращали эти изменения, при этом экзосомы НСК влияли на уровни дофамина и ДОФУК более эффективно. Полученные данные демонстрируют, что экзосомы НСК и МСК способны ослаблять ранние биохимические изменения и нарушения поведения при МФТП-индуцированной БП, что обосновывает перспективность их использования в качестве кандидатов для нейропротекторной терапии.

Ключевые слова: экзосомы, модель болезни Паркинсона, мезенхимальные стволовые клетки, нейральные стволовые клетки, МФТП, нейропротекторы

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-25-00073.

Для цитирования: Руденок М.М., Ратушняк М.Г., Семенова Е.И., Рыболовлев И.Н., Партевян С.А., Лукашевич М.В., Шапошникова Д.А., Нестеров М.С., Абаимов Д.А., Сломинский П.А., Шадрина М.И.,

Алиева А.Х. Влияние введения мезенхимальных и нейральных экзосом на двигательную активность и метаболизм дофамина у мышей с моделью болезни Паркинсона, индуцированной 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином. *Биомедицина*. 2026;22(1):48–59. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-4-48-59>

Поступила 13.01.2026

Принята после доработки 20.01.2026

Опубликована 30.04.2026

EFFECTS OF MESENCHYMAL AND NEURAL EXOSOME ADMINISTRATION ON MOTOR ACTIVITY AND DOPAMINE METABOLISM IN A MOUSE MODEL OF 1-METHYL-4-PHENYL-1,2,3,6-TETRAHYDROPYRIDINE-INDUCED PARKINSON'S DISEASE

Margarita M. Rudenok^{1,*}, Marya G. Ratushnyak¹, Ekaterina I. Semenova¹, Ivan N. Rybolovlev¹, Suzanna A. Partevian¹, Maria V. Lukashevich¹, Daria A. Shaposhnikova¹, Maxim S. Nesterov², Denis A. Abaimov³, Petr A. Slominsky¹, Maria I. Shadrina¹, Anelya Kh. Alieva¹

¹ National Research Center «Kurchatov Institute»
123182, Russian Federation, Moscow, Akademika Kurchatova Sq., 1

² 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

³ Russian Center for Neurology and Neurosciences
125367, Russian Federation, Moscow, Volokolamskoye Shosse, 80

Parkinson's disease (PD) is a progressive neurodegenerative disorder characterized by the loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra and a profound dopamine depletion in the striatum. The long pre-clinical latency period and the inability to directly investigate brain processes impede the analysis of early neurodegeneration and the search for effective therapeutic strategies. In recent years, increasing attention has focused on stem cell-derived exosomes — extracellular vesicles capable of transporting bioactive molecules and penetrating the blood-brain barrier. However, their impact on functional changes in the dopaminergic system in PD remains insufficiently explored. This study evaluated how exosomes isolated from mouse neural (NSC) and mesenchymal stem cell (MSC) conditioned media affect motor activity and striatal dopamine metabolism in a model of early-stage symptomatic PD induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). Behavior analysis in the open field test revealed that MPTP administration induced motor changes consistent with early Parkinsonian-like impairments. Intranasal administration of exosomes partially normalized these behavioral parameters, with MSC-derived exosomes exhibiting a more pronounced effect on motor activity. Biochemical analysis revealed a depletion of dopamine and its metabolites (dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), 3-methoxytyramine (3-MT), homovanillic acid (HVA)) following MPTP administration. Both types of exosomes partially prevented these changes, with NSC-derived exosomes having a stronger effect on dopamine and DOPAC levels. These findings demonstrate that NSC- and MSC-derived exosomes can mitigate early behavioral and biochemical impairments in MPTP-induced PD, highlighting their potential as candidates for neuroprotective therapy.

Keywords: exosomes, Parkinson's disease model, mesenchymal stem cells, neural stem cells, MPTP, neuroprotective agents

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

Funding: this work was supported by the Russian Science Foundation, project No. 25-25-00073.

For citation: Rudenok M.M., Semenova E.I., Rybolovlev I.N., Partevian S.A., Lukashevich M.V., Shaposhnikova D.A., Ratushnyak M.G., Nesterov M.S., Abaimov D.A., Slominsky P.A., Shadrina M.I., Alieva A.Kh. Effects of Mesenchymal and Neural Exosome Administration on Motor Activity and Dopamine Metabolism in a Mouse Model of 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine-Induced Parkinson's disease. *Journal Biomed.* 2026;22(1):48–59. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-48-59>

Submitted 13.01.2026

Revised 20.01.2026

Published 30.04.2026

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) относится к числу наиболее распространённых нейродегенеративных патологий [3]. При этом ожидается, что распространённость заболевания продолжит расти в связи с увеличением продолжительности жизни и общим демографическим старением населения. Доля мирового населения в возрасте 60 лет и старше по прогнозам почти удвоится с 12% в 2015 году до 22% в 2050 году. Этот демографический сдвиг приведёт к большему количеству больных БП во всём мире [22].

Для БП характерен длительный бессимптомный период развития — выраженные двигательные симптомы проявляются при потере более 50% дофаминергических (ДА-ергических) нейронов чёрной субстанции и падении уровня дофамина (ДА) в стриатуме на 70–80% [6, 10]. Временной диапазон от инициации нейродегенерации до манифестации типичных моторных симптомов, служащих основанием для постановки диагноза БП, может достигать 20 лет [5]. Таким образом, особенности локализации ДА-ергических нейронов, а также длительность бессимптомного периода БП осложняют изучение данного заболевания.

В развитии нейродегенеративных процессов важную роль при БП играет везикулярный транспорт [15, 19]. Значимыми участниками этого процесса являются экзосомы — небольшие внеклеточные везикулы диаметром от 30 до 150 нм, образующиеся в системе клеточного мембранного

комплекса [8]. Благодаря своим размерам они способны проходить через мембраны клеток и гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), могут переносить белки, липиды и нуклеиновые кислоты между клетками [14]. Эти везикулы сами по себе обогащены мембранными и липидными компонентами, а также нейротрофическими факторами [7]. Введение нативных экзосом, полученных из стволовых клеток, рассматривают в качестве одного из подходов к восстановлению нарушений нервной системы, обнаруженных при ряде таких патологий, как БП и рассеянный склероз, а также при воспалительных процессах в результате механических повреждений головного мозга [12]. Однако необходимо отметить, что в настоящее время эффекты влияния введения экзосом на состояние ДА-ергической системы, особенно на ранних стадиях БП, изучены мало.

Одним из подходов для изучения влияния различных фармакологических препаратов, в т.ч. экзосом, является использование экспериментальных моделей.

На сегодняшний день разработаны протоколы моделирования различных стадий патологического процесса при БП, которые детально описаны по характеру изменений локомоторной активности и уровню ДА и его метаболитов [13]. Анализ изменения именно этих показателей является наиболее распространённым и адекватным подходом для оценки состояния ДА-ергической системы и влияния введения экзосом на ДА-ергическую систему при развитии паркинсон-подобного фенотипа [16, 20].

Цель работы — оценить влияние введения экзосом, выделенных из культуральной среды, кондиционированной нейральными и мезенхимальными стволовыми клетками мыши, на двигательную активность и изменение уровня дофамина и его метаболитов в стриатуме мозга мышей при моделировании ранней симптомной стадии (РСС) болезни Паркинсона. Полученные данные позволят уточнить роль экзосом в функционировании нервной системы и могут стать основой для разработки новых подходов к терапии, направленной на предотвращение дисфункции дофаминергической системы.

Материалы и методы

Моделирование РСС БП с использованием МФТП

Острая модель РСС БП основана на введении мышам токсина МФТП («Sigma Chemical Co.», США) (однократная доза — 12 мг/кг в физ. р-ре, подкожно). Препарат вводили четырехкратно с интервалом в два часа [18].

Для проведения экспериментов использовались самцы мышей линии C57BL/6 в возрасте от 8 до 10 недель и массой 22–25 г. Все манипуляции с животными для создания модели проведены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и с требованиями локального этического комитета по вопросам биомедицинских исследований НИЦ «Курчатовский институт» (протокол № 1пр Локального этического комитета НИЦ «Курчатовский институт» от 16.01.2024).

Для проведения эксперимента сформировано 4 группы мышей. Распределение и формирование групп животных происходило с учетом таких параметров, как масса тела животного и длина пройденной дистанции в тесте «Открытое поле» (ОП): контрольная группа — NaCl (n=10) — контрольная группа с введением физ. р-ра

подкожно и интраназальным введением фосфатно-солевого буфера (ФСБ); МФТП-0 (n=10) — экспериментальная группа с введением только токсина МФТП и последующим интраназальным введением ФСБ; МФТП-МСК (n=10) — экспериментальная группа с введением подкожно МФТП и интраназально экзосом, полученных из МСК; МФТП-НСК (n=10) — экспериментальная группа с введением подкожно МФТП и интраназально экзосом, полученных из НСК. Экзосомы вводили в количестве 5 мкг по белку каждому животному.

Введение ФСБ или соответствующей суспензии экзосом в ФСБ (НСК или МСК) начиналось через 48 ч после введения МФТП и продолжалось в течение двух недель. Всего сделано 5 интраназальных инъекций по 5 мкл в каждую ноздрю (общий объем одного введения — 10 мкл).

Выведение животных из эксперимента осуществлялось с использованием цервикальной дислокации через две недели после инъектирования. Для оценки уровня ДА и его метаболитов отбирали ткани стриатума от каждого животного. Далее образцы стриатума были заморожены в жидком азоте, после чего были перемещены на хранение при -70°C .

Получение и характеристика препаратов экзосом

Препараты экзосом были получены из культуральной среды, кондиционированной НСК и МСК в стерильных условиях по ранее описанному протоколу [1, 2]. Для введения животным экзосомы замораживали в виде суспензии в ФСБ порциями по 100 мкл в концентрации по белку 500 мкг/мл. Экзосомы замораживали из расчета на введение группе животных из 10-ти мышей и хранили при -80°C .

Анализ двигательной активности при моделировании болезни Паркинсона

Изменение двигательной активности оценивали при помощи теста «Открытое

поле» (ОП). В качестве ОП использовали круглую арену, пол и стенки которой изготовлены из серого поливинилхлорида. Уровень освещенности арены составляет 115 люкс. Во время тестирования проводили видеорегистрацию поведения животного при помощи цветной аналоговой видеокамеры WV-CP500G («Panasonic», Япония), установленной над центром арены на высоте 2,5 м, и системы видеорегистрации поведения EthoVision XT 8.5 («Noldus Information Technology», Нидерланды). Во время видеорегистрации животных помещали в центр поля и фиксировали латентное время первого перемещения из центральной зоны, число пересеченных квадратов и вставаний на задние лапы (сток) за 5 мин теста. После каждого животного поверхность ОП тщательно промывали водой и высушивали.

Двигательную активность животных оценивали с использованием EthoVision XT 8.5. Изменения кратного (fold change, FC) и уровень достоверности (p-Value) рассчитывали с применением непараметрического U-теста Манна—Уитни и использованием пакета программ Statistica for Windows 8.0, STATISTICA 8.0. («StatSoft, Inc.», США), и программного обеспечения Excel 2016 («Microsoft», США). Различия между группами признаны достоверными при $p < 0,05$.

Определение уровня дофамина и его метаболитов стриатуме

Содержание катехоламинов и их метаболитов определяли в супернатанте с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ионно-парной хроматографии) с электрохимическим детектированием на жидкостном хроматографе System Gold («Beckman Coulter, Inc.», США), оснащенный инжектором Rheodyne 7125 (США) с петлей для образцов объемом 20 мкл. Исследуемые вещества разделяли на обращенно-фазовой колонке Nucleodur C18 Gravity, 4,6×250 мм, диаметр пор 5 мкм («Mashery-Nagel GmbH & Co. KG»,

Германия). Подвижная фаза (0,1 М цитратно-фосфатный буфер, pH=3,0, содержащий 1,1 мМ октансульфоновой кислоты, 0,1 мМ ЭДТА и 9% ацетонитрила) со скоростью потока 1 мл/мин при давлении 200 атм достигалась с помощью насоса System Gold 125 («Beckman Coulter, Inc.», США). Измерения проводились с использованием электрохимического детектора EC3000 («RECIPE Chemicals» + «Instruments GmbH», Германия), оснащенного ячейкой ClinLab ECD, модель Sputnik, с рабочим электродом из стеклогуглерода (+0,85 В) [11]. По результатам анализа были получены данные для ДА и его метаболитов: диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК), 3-метокситирамина (3-МТ) и гомованилиновой кислоты (ГВК). Fold change (FC) и p-Value рассчитывали с применением непараметрического U-теста Манна—Уитни и использованием пакета программ Statistica for Windows 8.0, STATISTICA 8.0 («StatSoft, Inc.», США), и программного обеспечения Excel 2016 («Microsoft», США). Различия между группами признаны достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследований

Влияние экзосом, полученных из культур МСК и НСК мыши, на ДА-ергическую систему было изучено при моделировании РСС БП, индуцированной введением токсина МФТП.

Препараты экзосом для данного исследования были выделены из НСК и МСК. Полученные частицы имели типичную округлую форму и хорошо различимую мембрану. Средний размер экзосом составлял от 44 до 68 нм для НСК и от 83 до 128,4 нм для МСК. В обоих типах препаратов выявлены характерные экзосомальные маркеры CD9, CD63, TSG101 [2]. Таким образом, полученные из культур НСК и МСК экзосомы соответствовали морфологическим и молекулярным критериям, принятым для идентификации экзосом [21],

и обладали способностью стимулировать процессы восстановления в повреждённых облучением НСК в экспериментах *in vitro*.

Для анализа изменения поведения у мышей с токсической моделью БП был проведен тест ОП. Выявлены статистически значимые изменения во времени нахождения в следующих зонах для группы МФТП-0: животные больше времени находились в центральной зоне и меньше — в пристеночной зоне относительно группы NaCl (табл. 1, рис.). Показатели времени нахождения в центральной и пристеночной зонах у мышей из групп МФТП-МСК и МФТП-НСК были на уровне группы NaCl.

Кроме того, животные из экспериментальных групп МФТП-0 и МФТП-НСК статистически значимо пересекали зоны ОП большее количество раз, чем животные из группы NaCl. Так, мыши из группы МФТП-0 пересекали центральную зону в 1,5 раза чаще, а мыши из группы МФТП-НСК — пристеночную зону в 1,75 раза (табл. 1, рис.).

У животных из групп МФТП-МСК и МФТП-НСК статистически значительно уменьшалось время нахождения в центральной зоне относительно животных из группы МФТП-0, в 1,9 ($FC=0,53\pm0,32$) и 1,4 ($FC=0,72\pm0,23$) раза соответственно (табл. 1, рис.). Также можно отметить незначительное, но достоверное увеличение времени нахождения в пристеночной зоне в обеих группах. Различий в количестве пересечений зон ОП у групп МФТП-МСК и МФТП-НСК относительно группы МФТП-0 не выявлено.

Далее был проведён анализ изменения уровней ДА и его метаболитов (ДОФУК, 3-МТ, ГВК) в стриатуме у мышей всех групп. Результаты представлены в табл. 2.

Уровень ДА в стриатуме снижается во всех экспериментальных группах по сравнению с группой NaCl в два и более раза. При этом снижение уровня ДА в группе МФТП-0 является наиболее сильным: относительно группы NaCl уровень ДА снижается в 3,7 раза ($FC=0,27\pm0,22$).

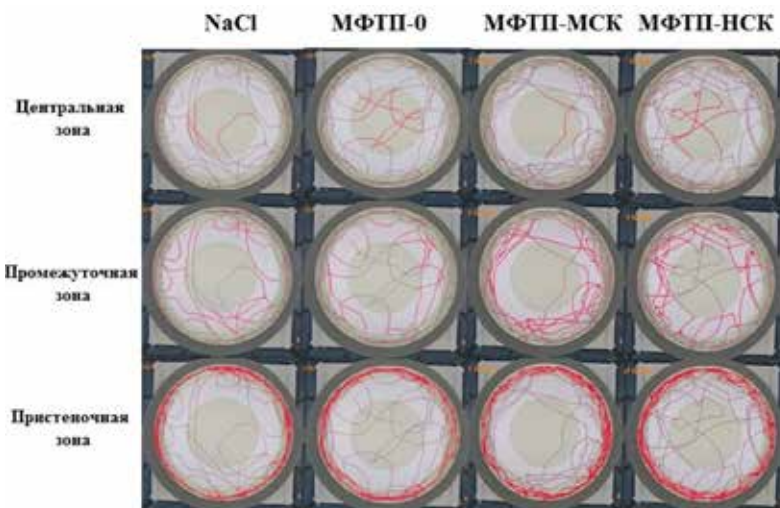


Рис. Репрезентативные пятиминутные треки движения в тесте «Открытое поле» (ОП) у мышей. В каждом изображении ОП отражен пятиминутный трек животного (выделен красным). Каждая зона ОП в соответствующем столбце выделяется более жирной линией.

Fig. Representative movement tracks of mice in the open field test. Each image displays a five-minute track of an animal (red line). In each column, the respective open-field zone is indicated by a bold outline.

Таблица 1. Анализ изменения двигательной мышечной активности при моделировании болезни Паркинсона
Table 1. Motor activity changes in a mouse model of Parkinson's disease

Группа	Зона ОП	Время нахождения в зоне, сек			Количество пересечений зон, п		
		Медиана (квартили)	FC (vs. NaCl)	FC (vs. МРТП-0)	Медиана (квартили)	FC (vs. NaCl)	FC (vs. МРТП-0)
NaCl	Центральная	7,44 (5,36–10,92)			4 (2,50–5,00)		
	Пристеночная	232,16 (227,32–252,88)			21 (16,00–26,50)		
МФТП-0	Центральная	15,68 (13,24–19,60)	2,10±0,94 ³		6 (6,00–7,50)	1,50±0,54	
	Пристеночная	222,40 (213,88–229,28)	0,96±0,11		28 (21,50–30,50)	1,33±0,32	
МФТП-МСК	Центральная	8,24 (5,16–11,08)	1,10±1,96	0,53±0,32	6 (3,00–6,00)	1,50±0,56	1,00±0,34
	Пристеночная	251,28 (246,88–255,52)	1,08±0,08	1,13±0,09	21 (15,50–29,50)	1,00±0,47	0,75±0,37
МФТП-НСК	Центральная	11,24 (8,12–13,24)	1,51±0,42	0,72±0,23	7 (4,75–8,00)	1,75±0,58	1,17±0,35
	Пристеночная	246,56 (236,04–256,38)	1,06±0,08	1,11±0,08	21,00 (16,25–25,50)	1,00±0,43	0,81±0,34

Примечание: FC (fold change) — изменения кратного; vs. — измерение относительно указанной группы (со стандартной ошибкой). Статистически значимые результаты выделены жирным шрифтом ($p < 0,05$).
Note: FC — fold change; vs. — measurement relative to the specified group (with standard error). Statistically significant results (p -value < 0.05) are indicated in bold.

В группах МФТП-МСК и МФТП-НСК также наблюдается снижение уровня ДА относительно NaCl (в 2,7 (FC=0,37±0,11) и в 2,2 (FC=0,45±0,15) раза соответственно). Стоит отметить, что в группе мышей, которым вводили экзосомы, полученные из МСК, уровень ДА снизился в 1,2 раза сильнее, чем у мышей из группы МФТП-НСК.

Помимо снижения уровня самого ДА, наблюдается достоверное снижение уровня его метаболита ДОФУК во всех экспериментальных группах по сравнению с контролем: в группе МФТП-0 ДОФУК снижается в 3 раза (FC=0,34±0,18), в группе МФТП-МСК — в 2,8 раза (FC=0,35±0,06) и в группе МФТП-НСК — в 1,69 раза (FC=0,59±0,13). Интересно, что картина изменений ДОФУК похожа на картину изменений ДА: самое сильное снижение ДОФУК по сравнению с контролем наблюдается в группе МФТП-0 (в 3 раза (FC=0,34±0,18)). В стриатуме животных, получавших препараты экзосом, уровень ДОФУК в группе МФТП-МСК в 1,58 раза ниже, чем в группе МФТП-НСК.

Достоверное снижение таких метаболитов, как 3-МТ и ГВК (в 1,69 (FC=0,59±0,23) и 1,78 (FC=0,56±0,19) раза соответственно), наблюдается только в группе МФТП-0.

В группе МФТП-МСК по сравнению с группой МФТП-0 было выявлено достоверное увеличение ГВК в 1,67 раза. Стоит отметить, в группах МФТП-МСК и МФТП-НСК не было выявлено статистически значимых изменений относительно группы МФТП-0 самого ДА, а также ДОФУК и 3-МТ (табл. 2).

Обсуждение результатов

В настоящей работе проведена оценка влияния введения экзосом, полученных из культур НСК и МСК мыши, на восстановление нервной системы мышей после токсического воздействия МФТП. Для этого были сформированы три экспериментальные группы: МФТП-0, МФТП-МСК и МФТП-НСК. Для всех этих групп был проведен анализ двигательной активности, а также анализ изменения ДА и его метаболитов в стриатуме.

Таблица 2. Изменение уровней дофамина и его метаболитов в стриатуме
Table 2. Changes in striatal levels of dopamine and its metabolites

Группа	ДА		ДОФУК		3-МТ		ГБК	
	Медиана, пмоль/моль (квартили)	FC (vs. NaCl) (vs. МРТР-0)	Медиана, пмоль/моль (квартили)	FC (vs. NaCl) (vs. МРТР-0)	Медиана, пмоль/моль (квартили)	FC (vs. NaCl) (vs. МРТР-0)	Медиана, пмоль/моль (квартили)	FC (vs. NaCl) (vs. МРТР-0)
NaCl	2385,96 (1837,03–3188,65)		428,10 (394,89–460,76)		268,49 (244,79–284,65)		178,74 (158,79–239,15)	
МФТП-0	650,95 (204,29–1186,55)	0,27±0,22	142,65 (76,02–211,67)	0,34±0,18	152,11 (129,12–191,55)	0,59±0,23	110,74 (92,63–122,65)	0,56±0,19
МФТП-МСК	937,42 (692,73–1167,34)	0,37±0,11	159,41 (139,27–164,80)	0,35±0,06	234,70 (186,33–289,43)	0,86±0,26	156,88 (135,59–178,71)	0,75±0,17
МФТП-НСК	1114,07 (818,44–1475,59)	0,45±0,15	253,00 (203,66–300,45)	0,59±0,13	193,70 (151,08–270,22)	0,79±0,28	178,23 (145,79–227,94)	0,93±0,25

Примечание: ДА — дофамин; ДОФУК — диоксифенилуксусная кислота (метаболит дофамина); 3-МТ — 3-метокситирамин (метаболит дофамина); ГБК — гомованилиновая кислота (метаболит катехоламинов). FC (fold change) — изменения кратного; vs. — измерение относительно указанной группы (со стандартной ошибкой). Статистически значимые результаты выделены жирным шрифтом ($p < 0,05$).

Note: DA — dopamine; ДОФУК — dihydroxyphenylacetic acid (dopamine metabolite); 3-MT — 3-methoxytyramine (dopamine metabolite); ГБК — homovanillic acid (catecholamine metabolite). FC—fold change; vs. — measurement relative to the specified group (with standard error). Statistically significant results (p -value $<0,05$) are indicated in bold.

Так, в группе МФТП-0 мы можем наблюдать достоверные изменения двигательной активности относительно контрольной группы (табл. 1, рис.). Увеличенное число пересечений центральной зоны в 1,5 раза относительно контроля указывает на то, что животные из группы МФТП-0 не испытывали отвращения к открытому пространству и продолжали исследовательскую деятельность (табл. 1). Это может свидетельствовать о том, что на данной моделируемой стадии поведенческие изменения не сильно выражены, что соответствует картине моторных изменений у пациентов с БП на ранних стадиях [10]. При этом мы наблюдали увеличение времени нахождения в центральной зоне более чем в два раза, а также достоверное, но небольшое снижение времени нахождения в пристеночной зоне (табл. 1). Возможно, замирание в центральной зоне и отсутствие стремления к нахождению в пристеночной зоне говорит о сужении радиуса исследовательской зоны животного и, как следствие, развитии тревожного поведения [4].

Также мы наблюдали достоверное снижение времени нахождения в центральной зоне и увеличение времени нахождения в пристеночной зоне мышей из групп МФТП-МСК и МФТП-НСК относительно группы МФТП-0. При этом изменения в группе МФТП-МСК более выражены (табл. 1, рис.). Стремление грызунов к пристеночной зоне является индикатором естественного поведения животного [4]. Таким образом, можно отметить, что препараты экзосом, полученные как от МСК, так и НСК, способствовали нормализации двигательной активности

модельных животных по сравнению с группой МФТП-0.

Снижение двигательной активности в группе МФТП-0 можно объяснить снижением уровня ДА и его метаболитов в 1,5 и более раза (табл. 2). Такое изменение соответствует критериям ранних стадий заболевания у пациентов с БП, что может указывать на адекватность используемой нами модели. Как видно из табл. 2, было выявлено достоверное снижение уровня ДА во всех исследуемых группах. Однако концентрация ДА в группах МФТП-МСК и МФТП-НСК выше, чем в группе МФТП-0, в 1,34 и 1,63 раза соответственно. Данные результаты также подтверждают тот факт, что введение препаратов экзосом — как МСК, так и НСК — может способствовать нормализации уровня ДА в стриатуме.

Для более целостного понимания изменений уровня ДА также был проведен анализ его метаболитов — ДОФУК, 3-МТ и ГВК. ДОФУК используют в качестве индикатора синтеза ДА внутри нейрона. Содержание 3-МТ в ткани может использоваться в качестве показателя высвобождения ДА. ГВК является конечным продуктом метаболизма ДА [17]. В связи с этим мы предполагаем, что снижение уровней ДОФУК, 3-МТ, ГВК и самого ДА в группе МФТП-0 может указывать на нарушение полного цикла метаболизма ДА. В стриатуме мышей из групп МФТП-МСК и МФТП-НСК наблюдалось снижение ДОФУК в 2,9 ($FC=0,35\pm 0,06$) и 1,69 ($FC=0,59\pm 0,13$) раза соответственно. При этом концентрация данного метаболита в указанных группах выше, чем в группе МФТП-0. Стоит отметить, что достоверных изменений 3-МТ и ГВК не наблюдалось (табл. 2). Так, описанные результаты могут указывать на то, что полученные препараты экзосом — как из МСК, так и из НСК — предположительно способствуют нормализации метаболизма ДА преимущественно во внеклеточном пространстве [17].

Профиль изменения всех метаболитов практически совпадает с профилем изменения самого ДА: концентрация метаболитов в группах МФТП-МСК и МФТП-НСК выше, чем в группе МФТП-0. При этом концентрация ДА, ДОФУК и ГВК в группе МФТП-НСК выше, чем в группе МФТП-МСК (табл. 2). Данная картина изменений также подтверждает тот факт, что введение препаратов экзосом — как МСК, так и НСК — может способствовать нормализации метаболизма ДА. Профиль изменений ДА и его метаболитов предположительно указывает на то, что использование экзосом, выделенных как из МСК, так и НСК, может обладать модулирующим действием, причем для экзосом, полученных из НСК, эффект наиболее выражен.

Закключение

Таким образом, введение препаратов экзосом, полученных как из МСК, так и НСК, привело к частичной компенсации нарушений, вызванных МФТП, как на поведенческом, так и на биохимическом уровнях. При этом введение экзосом, полученных из МСК, приводит к более выраженному восстановлению двигательной активности мышей, а введение экзосом, полученных из НСК, — к восстановлению на уровне метаболитов. Полученные нами данные позволяют рассматривать исследуемые экзосомы в качестве перспективных терапевтических препаратов для нормализации ДА-ергической системы.

Наблюдаемые различия влияния экзосом, в зависимости от их происхождения, на состояние ДА-ергической системы могут иметь целый ряд причин. Во-первых, используются экзосомы разного размера: средний диаметр экзосом, полученных из НСК, составляет 56 нм, что в два раза меньше, чем у экзосом, полученных из МСК (105,7 нм) [2]. Во-вторых, исследуемые экзосомы могут частично соответствовать функциям клеток, из которых

они происходят [9]. В-третьих, экзосомы разного происхождения могут содержать в своем составе, а также транспортировать различные белки, микро-РНК и другие молекулы. В связи с этим для более точного выяснения влияния экзосом, полученных

из разных типов клеток, на состояние ДА-ергической системы необходимо детально изучать состав экзосом, а также рассмотреть влияние этих везикул и на других клеточных уровнях, например на уровне РНК и белка.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Посыпанова Г.А., Ратушняк М.Г., Семочкина Ю.П., Абишева А.А., Москалева Е.Ю. Чувствительность культивируемых нейральных стволовых клеток мыши к действию ионизирующего излучения. *Цитология*. 2019;61(10):806–816. [Posypanova G.A., Ratushnyak M.G., Semochkina Yu.P., Abisheva A.A., Moskaleva E.Yu. Chuvstvitel'nost' kul'tiviruyemykh neyral'nykh stvolovykh kletok myshi k deystviyu ioniziruyushchego izlucheniya [The sensitivity of the cultured murine neural stem cells to the ionizing radiation]. *Cytology*. 2019;61(10):806–816. (In Russian)]. DOI: 10.1134/s0041377119100067.
2. Ратушняк М.Г., Семочкина Ю.П., Ястремский Е.В., Камышинский Р.А. Повышение выживаемости облучённых нейральных стволовых клеток с помощью экзосом стволовых клеток. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2022;2:100–108. [Ratushnyak M.G., Semochkina Yu.P., Yastremsky E.V., Kamyshinsky R.A. Povysheniye vyzhi-vayemosti obluchoyennykh neyral'nykh stvolovykh kletok s pomoshch'yu ekzosom stvolovykh kletok [Stem cell exosomes improve survival of neural stem cells after radiation exposure]. *Kletochnye tehnologii v biologii i medicine [Cell Technologies in Biology and Medicine]*. 2022;2:100–108. (In Russian)]. DOI: 10.47056/1814-3490-2022-2-100-108.
3. Balestrino R., Schapira A.H.V. Parkinson disease. *Eur. J. of Neurology*. 2020;27:27–42. DOI: 10.1111/ene.14108.
4. *Basic behavioral neuroscience in rodents — A practical guide*. Netherlands: Noldus Information Technology BV, 2022.
5. Braak H., Del Tredici K. Neuropathological Staging of Brain Pathology in Sporadic Parkinson's disease: Separating the Wheat from the Chaff. *J. Parkinsons Dis.* 2017;7:S71–S85. DOI: 10.3233/JPD-179001.
6. Cookson M.R., Hardy J., Lewis P.A. Genetic Neuropathology of Parkinson's Disease. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2008;1:217–231.
7. Dehghani S., Ocakci O., Hatipoglu P.T., Özalp V.C., Tevlek A. Exosomes as Biomarkers and Therapeutic Agents in Neurodegenerative Diseases: Current Insights and Future Directions. *Molecular Neurobiology*. 2025;62:9190–9215. DOI: 10.1007/s12035-025-04825-5.
8. Gurung S., Perocheau D., Touramanidou L., Baruteau J. The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signalling. *Cell Communication and Signaling*. 2021;19(1):47. DOI: 10.1186/s12964-021-00730-1.
9. Han C., Sun X., Liu L., Jiang H., Shen Y., Xu X., Li J., Zhang G., Huang J., Lin Z., Xiong N., Wang T., Lasagni L. Exosomes and Their Therapeutic Potentials of Stem Cells. *Stem Cells International*. 2016;2016:7653489. DOI: 10.1155/2016/7653489.
10. Kalia L.V., Lang A.E. Parkinson's disease. *Lancet*. 2015;386:896–912. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61393-3.
11. Kokhan V.S., Mariasina S., Pikalov V.A., Abaimov D.A., Somasundaram S.G., Kirkland C.E., Aliev G. Neurokinin-1 Receptor Antagonist Reverses Functional CNS Alteration Caused by Combined γ -rays and Carbon Nuclei Irradiation. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2022;21(3):278–289. DOI: 10.2174/1871527320666210122092330.
12. Kudpaje M., Joghee S., Kumar R.M.R. Exosomes as a Nanotheranostic Platform in Brain Diseases. *European Journal of Neuroscience*. 2025;62(3):e70215. DOI: 10.1111/ejn.70215.
13. Mustapha M., Mat Taib C.N. MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease: A promising direction of therapeutic strategies. *Bosn. J. Basic. Med. Sci.* 2021;21(4):422–433. DOI: 10.17305/bjbm.2020.5181.
14. Pinnell J.R., Cui M., Tieu K. Exosomes in Parkinson disease. *J. Neurochem*. 2021;157:413–428. DOI: 10.1111/jnc.15288.
15. Rudenok M.M., Shadrina M.I., Filatova E.V., Rybolovlev I.N., Nesterov M.S., Abaimov D.A., Ageldinov R.A., Kolacheva A.A., Ugrumov M.V., Slominsky P.A., Alieva A.K. Expression Analysis of Genes Involved in Transport Processes in Mice with MPTP-Induced Model of Parkinson's Disease. *Life*. 2022;12:751. DOI: 10.3390/life12050751.
16. Salari S., Bagheri M. *In vivo, in vitro* and pharmacologic models of Parkinson's disease. *Physiol Res*. 2019;68:17–24. DOI: 10.33549/physiolres.933895.
17. Salminen O. Effect of Nicotine on Dopaminergic Neurotransmission and Expression of Fos Protein. *Helsingin yliopisto*, 2000.
18. Semenova E.I., Rudenok M.M., Rybolovlev I.N., Shulskaya M.V., Lukashovich M.V., Partevian S.A., Budko A.I., Nesterov M.S., Abaimov D.A., Slominsky P.A., Shadrina M.I., Alieva A.K. Effects of Age and MPTP-Induced Parkinson's Disease on the Expression of Genes Associated with the Regulation of the Sleep-

- Wake Cycle in Mice. *Int. J. Mol. Sci.* 2024;25(14):7721. DOI: 10.3390/ijms25147721.
19. Shippey L.E., Campbell S.G., Hill A.F., Smith D.P. Propagation of Parkinson's disease by extracellular vesicle production and secretion. *Biochemical Society Transactions.* 2022;50:1303–1314. DOI: 10.1042/bst20220204.
20. Ugrumov M.V., Khaindrava V.G., Kozina E.A., Kucheryanu V.G., Bocharov E.V., Kryzhanovsky G.N., Kudrin V.S., Narkevich V.B., Klodt P.M., Rayevsky K.S., Pronina T.S. Modeling of presymptomatic and symptomatic stages of parkinsonism in mice. *Neuroscience.* 2011;181:175–188. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2011.03.007.
21. Witwer K.W., Goberdhan D.C.I., O'Driscoll L., Théry C., Welsh J.A., Blenkinsop C., Buzás E.I., Di Vizio D., Erdbrügger U., Falcón-Pérez J.M., Fu Q.L., Hill A.F., Lenassi M., Lötvall J., Nieuwland R., Ochiya T., Rome S., Sahoo S., Zheng L. Updating MISEV: Evolving the minimal requirements for studies of extracellular vesicles. *J. of Extracellular Vesicles.* 2021;10(14):e12182. DOI: 10.1002/jev2.12182.
22. Zhu J., Cui Y., Zhang J., Yan R., Su D., Zhao D., Wang A., Feng T. Temporal trends in the prevalence of Parkinson's disease from 1980 to 2023: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Healthy Longevity.* 2024;5:e464–e479. DOI: 10.1016/s2666-7568(24)00094-1.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Руденок Маргарита Максимовна*, к.б.н., ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;
e-mail: rudenokmm.img@yandex.ru

Margarita M. Rudenok*, Cand. Sci. (Biol.), National Research Center «Kurchatov Institute»;
e-mail: rudenokmm.img@yandex.ru

Ратушняк Мария Григорьевна, к.б.н., ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;
e-mail: ratushnyak_marya@mail.ru

Marya G. Ratushnyak, Cand. Sci. (Biol.), National Research Center «Kurchatov Institute»;
e-mail: ratushnyak_marya@mail.ru

Семенова Екатерина Игоревна, к.б.н., ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;
e-mail: semyonovak@mail.ru

Ekaterina I. Semenova, Cand. Sci. (Biol.), National Research Center «Kurchatov Institute»;
e-mail: semyonovak@mail.ru

Рыболовлев Иван Никитич, ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;
e-mail: bobrybolov@gmail.com

Ivan N. Rybolovlev, National Research Center «Kurchatov Institute»;
e-mail: bobrybolov@gmail.com

Партевян Сюзанна Артуровна, ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;
e-mail: s.partev@yandex.ru

Suzanna A. Partevyan, National Research Center «Kurchatov Institute»;
e-mail: s.partev@yandex.ru

Лукашевич Мария Витальевна, ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;
e-mail: farouki@mail.ru

Maria V. Lukashevich, National Research Center «Kurchatov Institute»;
e-mail: farouki@mail.ru

Шапошникова Дарья Алексеевна, ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;
e-mail: Shaposhnikova_DA@nrcki.ru

Daria A. Shaposhnikova, National Research Center «Kurchatov Institute»;
e-mail: Shaposhnikova_DA@nrcki.ru

Нестеров Максим Сергеевич, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: mdulya@gmail.com

Maxim S. Nesterov, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: mdulya@gmail.com

Абаймов Денис Александрович, к.б.н., ФГБНУ «Российский центр неврологии и нейронаук»;
e-mail: abaidenis@yandex.ru

Denis A. Abaimov, Cand. Sci. (Biol.), Russian Center for Neurology and Neurosciences;
e-mail: abaidenis@yandex.ru

Сломинский Петр Андреевич, д.б.н., ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;
e-mail: paslominsky@bk.ru

Petr A. Slominsky, Dr. Sci. (Biol.), National Research Center «Kurchatov Institute»;
e-mail: paslominsky@bk.ru

Шадрина Мария Игоревна, д.б.н., ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;
e-mail: maria.i.shadrina@yandex.ru

Maria I. Shadrina, Dr. Sci. (Biol.), National Research Center «Kurchatov Institute»;
e-mail: maria.i.shadrina@yandex.ru

Алиева Анеля Ханларовна, к.б.н., ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;
e-mail: anelja.a@gmail.com

Anelya Kh. Alieva, Cand. Sci. (Biol.), National Research Center «Kurchatov Institute»;
e-mail: anelja.a@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



РАСЧЁТНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РАЗМЫТИЯ ПОТЕНЦИАЛА ПРИ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ МИКРОПОЛЯРИЗАЦИИ ДВУМЯ БЛИЗКО РАСПОЛОЖЕННЫМИ ЭЛЕКТРОДАМИ СТАНДАРТНОЙ ФОРМЫ

Н.Н. Каркищенко¹, Д.Б. Чайванов^{2,*}, Ю.Ю. Клосс²

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

² ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»
123182, Российская Федерация, Москва, пл. Академика Курчатова, 1

В статье описан численный эксперимент, в котором исследовалось протекание постоянного электрического тока между двумя электродами малой площади, установленными на внешней поверхности скальпа человека. В эксперименте было показано размытие потенциала между двумя близко расположенными электродами.

Ключевые слова: микрополяризация, транскраниальная микрополяризация, нейростимуляция

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Каркищенко Н.Н., Чайванов Д.Б., Клосс Ю.Ю. Расчётно-теоретический анализ размытия потенциала при транскраниальной микрополяризации двумя близко расположенными электродами стандартной формы *Биомедицина*. 2026;22(1):60–64. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-60-64>

Поступила 15.12.2025

Принята после доработки 12.01.2026

Опубликована 30.04.2026

COMPUTATIONAL AND THEORETICAL ANALYSIS OF POTENTIAL BLURRING IN TRANSCRANIAL DIRECT CURRENT STIMULATION WITH TWO CLOSELY SPACED STANDARD-SHAPED ELECTRODES

Nikolay N. Karkischenko¹, Dmitry B. Chaivanov^{2,*}, Yury Yu. Kloss²

¹ 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

² National Research Centre “Kurchatov Institute”
123182, Russian Federation, Moscow, Akademika Kurchatova Square, 1

This article presents a numerical study investigating the direct current flow between two small-scale electrodes placed on the human scalp. The findings reveal spatial blurring of the electric potential between two closely spaced electrodes.

Keywords: direct current stimulation, transcranial direct current stimulation, neurostimulation

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

For citation: Karkischenko N.N., Chaivanov D.B., Kloss Yu.Yu. Computational and Theoretical Analysis of Potential Blurring in Transcranial Direct Current Stimulation with Two Closely Spaced Standard-Shaped Electrodes. *Journal Biomed.* 2026;22(1):60–64. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-60-64>

Submitted 15.12.2025

Revised 12.01.2026

Published 30.04.2026

Введение

Транскраниальная микрополяризация (ТМКП) является одним из методов нейростимуляции, который заключается в подаче слабого постоянного электрического тока через электроды малой площади, установленные на поверхности скальпа. ТМКП вызывает изменения физиологических (электроэнцефалография, вызванный потенциал) и биофизических (плотность синапсов, их локализация) показателей корковых и подкорковых отделов мозга [3–5, 8]. Микрополяризационное воздействие на височные области коры улучшает слуховую память, память на время и память на слова; на префронтальную кору — улучшает двигательную память; на теменно-затылочную кору — приводит к улучшению зрительной памяти [3]. ТМКП применяются для лечения широкого круга заболеваний в т.ч. шизофрении с синдромом вербального псевдогаллюциноза, депрессии и т.д. [3–5, 7].

В целях избирательной стимуляции мозговых структур электроды должны иметь небольшие размеры. В то же время для получения эффекта необходимо подавать на электроды токи достаточной амплитуды. Уменьшение площади электрода при заданной величине подаваемого на него тока приведёт к увеличению плотности тока, втекающего в скальп. Слишком высокая плотность втекающего в скальп тока вызывает болевые эффекты и повреждения скальпа. Таким образом, уменьшать площадь электродов можно только до достижения максимально допустимой плотности тока [6].

В целях прогноза терапевтического эффекта ТМКП представляется важным

определить область нейростимуляции. Эта область не будет иметь чётких границ и не будет заканчиваться сразу за областью, находящейся под электродом. Напротив, будет наблюдаться размытие области стимуляции, вызванное постепенным снижением потенциала по мере удаления от внешней границы подэлектродной области. Ранее нами был проведён численный эксперимент, в котором мы оценили степень размытия потенциала для случая одного электрода, установленного на поверхности скальпа [2].

Цель работы — оценить степень размытия области стимуляции для случая применения двух близко расположенных электродов стандартной формы.

Материалы и методы

Математическая модель

Система уравнений, описывающая течение тока и распределение потенциала, имеет вид:

$$\begin{cases} j = \lambda \cdot \text{grad}(\varphi), \\ \text{div}(j) = 0, \end{cases} \quad (1)$$

где: j — плотность тока, λ — проводимость тканей головы, φ — потенциал.

Первое векторное уравнение отражает закон Ома для непрерывной среды в приближении пренебрежимо малого реактивного сопротивления. Второе уравнение отражает закон сохранения заряда в среде с пренебрежимо малой удельной емкостью.

Проводимости и геометрические размеры структур головы приведены в таблице согласно общеизвестным данным [1]. Мы приближённо считали, что мозг имеет форму шара, а прочие структуры имеют форму сферических слоёв.

Таблица. Проводимости и размеры структур головы
Table. Conductivities and dimensions of head structures

Название структуры	Проводимость (Ом·см) ⁻¹	Размеры структуры, мм
Скальп	0,330	5,0 (толщина стоя)
Верхняя костная пластина	0,004	1,5 (толщина стоя)
Ячеистый слой кости	0,050	4,0 (толщина стоя)
Нижняя костная пластина	0,004	1,5 (толщина стоя)
Твердая мозговая оболочка	0,010	2,0 (толщина стоя)
Мозг	0,270	76,0 (диаметр)

Граничные условия задают постоянный потенциал в области наложения электродов на скальп и нулевую составляющую нормали плотности тока к внешней поверхности скальпа в местах отсутствия электродов.

В численном эксперименте мы положили потенциалы на электродах равными одному и минус одному вольту. При других значениях потенциалов произойдёт растяжение или сжатие результата по оси потенциала, но нормированная на разность потенциалов степень размытия стимуляционного пятна никак не изменится. В нашем численном эксперименте мы будем использовать следующие граничные условия:

$$\begin{cases} \varphi=1 \text{ (поверхность скальпа под первым электродом)} \\ \varphi=-1 \text{ (поверхность скальпа под вторым электродом)} \\ j_{\perp}(\varphi)=0 \text{ (поверхность скальпа, свободная} \\ \text{от электродов)} \end{cases} \quad (2)$$

Метод решения системы уравнений

Система уравнений, описывающая растекание тока и распределение потенциала, может быть существенно упрощена: для этого возьмём дивергенцию от всех членов первого уравнения системы (1) и в результате получим:

$$\begin{cases} \operatorname{div}(j)=\operatorname{div}(\lambda \cdot \operatorname{grad}(\varphi)), \\ \operatorname{div}(j)=0. \end{cases} \quad (3)$$

Подставим значение дивергенции плотности тока (равное нулю) из второго уравнения в первое. В результате получим уравнение для потенциала:

$$\operatorname{div}(\lambda \cdot \operatorname{grad}(\varphi))=0. \quad (4)$$

Таким образом, для расчётно-теоретического анализа размытия потенциала до-

статочно численно решить одно скалярное уравнение.

Граничными условиями в месте наложения электродов на скальп будут постоянные заданные потенциалы. Граничным условием на внешней поверхности скальпа, свободной от установки электродов, будет равенство нормальной к поверхности скальпа составляющей градиента потенциала нулю (5). Такое значение нормальной составляющей градиента равносильно аналогичному значению нормальной составляющей тока, что следует из первого уравнения системы (1).

$$\begin{cases} \varphi=1 \text{ (поверхность скальпа под первым электродом)} \\ \varphi=-1 \text{ (поверхность скальпа под вторым электродом)} \\ \operatorname{grad}_{\perp}(\varphi)=0 \text{ (поверхность скальпа, свободная} \\ \text{от электродов)} \end{cases} \quad (5)$$

Решение уравнения было осуществлено нами с помощью солвера из пакета FiPy 4.0.1, являющегося библиотекой языка Python. Для построения сетки использовался модуль Gmsh. Для графического представления результатов была применена библиотека matplotlib языка Python. Для удобства графического представления результатов расчёта поверхность головы была приведена к плоскости (по аналогии с географической картой, отражающей рельеф на сферической поверхности Земли).

Результаты исследования

Распределение потенциала для электродов эллиптической и прямоугольной формы, полученное в результате численного решения уравнений, представлено на рисунке.

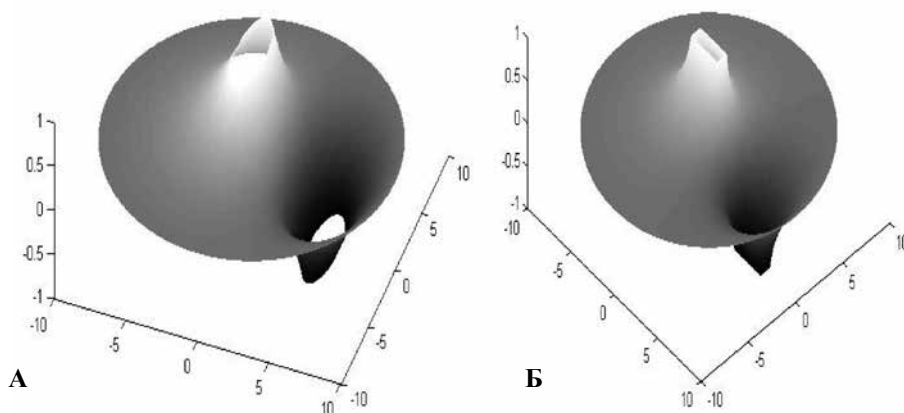


Рис. Распределение потенциала при стимуляции электродами стандартной формы: А — электроды эллиптической формы; Б — электроды прямоугольной формы.

Fig. Potential distribution during stimulation with standard-shaped electrodes: А — elliptical electrodes; Б — rectangular electrodes.

Выводы

1. При микрополяризации двумя близко расположенными электродами стандартной формы потенциал не спадает сразу за границей электрода микрополяризации. Напротив, в непосредственной близости от электрода создаётся зона размытия, в которой потенциал постепенно уменьшается.

2. При микрополяризации двумя близко расположенными электродами стандарт-

ной формы размеры области размытия мало зависят от формы электродов и соизмеримы с геометрическими размерами электродов.

3. При микрополяризации двумя близко расположенными электродами стандартной формы стимуляции подвержены не только области мозга, находящиеся непосредственно под электродами, но и области, находящиеся вблизи от проекции на мозг границ электрода.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Гнездицкий В.В. *Обратная задача ЭЭГ и клиническая электроэнцефалография*. М.: Медпресс-информ, 2004:624. [Gnezdiczkij V.V. *Obratnaya zadacha EEG i klinicheskaya elektroencefalografiya* [Reverse EEG Problem and Clinical Electroencephalography]. Moscow: Medpress-inform Publ, 2004:624. (In Russian)].
2. Каркищенко Н.Н., Чайванов Д.Б., Вартанов А.А. Расчет потенциалов и токов стимуляции для двухмерной модели скальпа с учетом коэффициентов затекания в мозг. *Биомедицина*. 2013;1(2):6–11. [Karkischenko N.N., Chajvanov D.B., Vartanov A.A. Raschet potencialov i tokov stimulyacii dlya dvuhmernoj modeli skal'pa s uchetom koefficientov zatekaniya v mozg [Calculation of stimulation potentials and currents for a two-dimensional scalp model, taking into account the coefficients of leakage into the brain]. *Biomedicina* [Journal Biomed]. 2013;1(2):6–11. (In Russian)].
3. Пинчук Д.Ю. *Транскраниальные микрополяризации головного мозга*. СПб: Человек, 2007:496. [Pinchuk D.Yu. *Transkranial'nye mikropolyarizacii golovnogo mozga* [Transcranial micropolarization of the brain]. St. Petersburg: Chelovek Publ., 2007:496. (In Russian)].
4. Пономаренко Г.Н. *Физические методы лечения. Справ. по физиотерапии для врачей*. 2-е изд., перераб. и доп. СПб.: Воен.-мед. акад., 2002:299. [Ponomarenko G.N. *Fizicheskie metody lecheniya. Sprav. po fizioterapii dlya vrachej* [Physical methods of treatment. Handbook of Physiotherapy for Doctors]. 2nd ed., revised and enlarged. St. Petersburg: Military Medical Acad. Publ., 2002:299. (In Russian)].
5. Раева С.Н. *Микроэлектродные исследования активности головного мозга человека*. М.: Наука, 1977:205. [Raeva S.N. *Mikroelektroodnye issledovaniya aktivnosti golovnogo mozga cheloveka* [Microelectrode studies of human brain activity]. Moscow: Nauka Publ., 1977:205. (In Russian)].

6. Чайванов Д.Б., Каркищенко Н.Н. Математическая модель биофизических процессов при транскраниальной микрополяризации. *Биомедицина*. 2011;1(3):6–11 [Chajvanov D.B., Karkischenko N.N. Matematicheskaya model' biofizicheskikh processov pri transkraniyal'noj mikropolyarizacii [Mathematical model of biophysical processes during transcranial micropolarization]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2011;1(3):6–11. (In Russian)].
7. Шелякин А.М., Пономаренко Г.Н. *Микрополяризация мозга*. СПб: ИИЦ Балтика, 2006:222. [Shelyakin A.M., Ponomarenko G.N. *Mikropolyarizaciya mozga [Micropolarization of the brain]*. St. Petersburg: IICz Baltika Publ., 2006:222. (In Russian)].
8. Kadosh R.C., Soskic S., Iuculano T., Kanai R., Walsh V. Modulating neuronal activity produces specific and long-lasting changes in numerical competence. *Current Biology*. 2010;20(22):2016–2020. DOI: 10.1016/j.cub.2010.10.007.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

Nikolay N. Karkischenko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the Russian Academy of Rocket and Artillery Sciences, Corr. 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

Чайванов Дмитрий Борисович*, к.ф.-м.н., ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»»;
e-mail: Chayvanov_DB@nrcki.ru

Dmitry B. Chaivanov*, Cand. Sci. (Phys.-Math.), National Research Centre “Kurchatov Institute”;
e-mail: Chayvanov_DB@nrcki.ru

Клосс Юрий Юрьевич, д.ф.-м.н., ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»»;
e-mail: kloss.yu@gmail.com

Yury Yu. Kloss, Dr. Sci. (Phys.-Math.), National Research Centre “Kurchatov Institute”;
e-mail: kloss.yu@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-65-69>



ЭЛЕКТРООПТИЧЕСКИЙ МЕТОД АНАЛИЗА УРОВНЯ САМОКОНТРОЛЯ

Н.Н. Каркищенко¹, Д.Б. Чайванов^{2,*}, Ю.А. Чудина², Ю.Ю. Клосс²

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

² ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»
123182, Российская Федерация, Москва, пл. Академика Курчатова, 1

В проведённых нами экспериментальных исследованиях было показано, что уровень самоконтроля в процессе выполнения операторской деятельности может быть определён на основе анализа рассогласования длины кардиоинтервала и длины пульсовой волны.

Ключевые слова: метод контроля надёжности оператора, метод анализа самоконтроля, повышение эффективности оператора

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Каркищенко Н.Н., Чайванов Д.Б., Чудина Ю.А., Клосс Ю.Ю. Электрооптический метод анализа уровня самоконтроля. *Биомедицина*. 2026;22(1):65–69. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-65-69>

Поступила 15.12.2025

Принята после доработки 12.01.2026

Опубликована 30.04.2026

ELECTRO-OPTICAL METHOD FOR EVALUATING THE LEVEL OF SELF-REGULATION

Nikolay N. Karkischenko¹, Dmitry B. Chaivanov^{2,*}, Yulia A. Chudina², Yury Yu. Kloss²

¹ 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

² National Research Centre “Kurchatov Institute”
123182, Russian Federation, Moscow, Akademika Kurchatova Square, 1

The conducted experimental studies show that the level of self-regulation during operator activities can be determined by analyzing the mismatch between the cardio-interval duration and the pulse wave duration.

Keywords: operator reliability monitoring, self-regulation analysis, improving operator efficiency

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

For citation: Karkischenko N.N., Chaivanov D.B., Chudina Yu.A., Kloss Yu.Yu. Electro-Optical Method for Evaluating the Level of Self-Regulation. *Journal Biomed*. 2026;22(1):65–69. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-65-69>

Submitted 15.12.2025

Revised 12.01.2026

Published 30.04.2026

Введение

По различным оценкам причиной от 40 до 80% тяжёлых аварий в атомной отрасли были ошибочные или несвоевременные действия операторов. Экономический ущерб от одной тяжёлой аварии на атомной электростанции может составлять десятки триллионов рублей, привести к трудновосполнимым потерям национальной экономики, спровоцировать политическую дестабилизацию и стать одной из причин распада государства.

Ошибочные действия операторов сложных технических комплексов оборонного назначения могут стать причиной полномасштабной ядерной войны, привести к гибели значительной части человечества и катастрофическим последствиям для мировой экономики.

В проведённых ранее исследованиях мы показали, что электрооптический метод может успешно использоваться для контроля таких важнейших параметров, характеризующих эффективность и надёжность операторов, как достаточность церебрального кровотока [1–3] и адаптивная способность к стрессу и монотонной деятельности [4].

Уровень самоконтроля оператора также является одной из важнейших характеристик, определяющих надёжность и эффективность его функционирования. В настоящей статье нами показано, что уровень самоконтроля может быть проанализирован на основании рассогласования длины кардиоинтервала и длины пульсовой волны, измеряемых в процессе выполнения операторской деятельности.

Цель работы — разработка метода анализа самоконтроля, применимого в процессе обучения на тренажёре-эмуляторе и управления сложным техническим комплексом.

Материалы и методы

Исследование проводили на базе филиала «Клиническая фармакология» ФГБУН

НЦБМТ ФМБА России (Москва). Добровольцы, принявшие участие в исследовании, были ознакомлены с условиями проведения процедуры, одобренной локальным этическим комитетом, и подписывали информированное добровольное согласие.

В исследовании принимали участие 34 добровольца в возрасте 18–57 лет. Все испытуемые были здоровы и не имели патологий сердечно-сосудистой и нервной системы.

Запись показателей производили отдельно для каждого испытуемого, во время которой он находился в сидячем положении, руки располагались на подлокотниках кресла. Запись фотоплетизмограммы (ФПГ) и электрокардиограммы (ЭКГ) осуществлялась одновременно. Для записи ФПГ и ЭКГ использовался психофизиологический телеметрический программно-аппаратный комплекс «Реакор». Запись ЭКГ осуществлялась в стандартном отведении, для этого электроды позиционировались на запястьях. Данные ФПГ одновременно фиксировали с мочки левого уха. Обработка полученных данных осуществлялась с помощью программы Microsoft Excel, пакетов SPSS и Statistica.

С целью выявления степени рассогласования данных, полученных с помощью ФПГ и ЭКГ, в зависимости от уровня активации центральной нервной системы запись ЭКГ и ФПГ осуществлялась в четыре этапа, среди которых один был предварительный и три основных. Предварительный этап проводился с целью стабилизации состояния испытуемого, в ходе которого предъявляли изображения природных ландшафтов и просили испытуемых расслабиться. В дальнейшем обрабатывали данные, полученные только в ходе основных этапов. Запись данных на каждом этапе продолжалась в течение 2 мин. Интервал между этапами, составляющий 10 сек, использовали для предъявления инструкции.

На первом основном этапе осуществлялся базовый замер показателей ФПГ и ЭКГ.

Для этого испытуемому давалась инструкция сидеть спокойно, не двигаться, а в это время в наушниках играла спокойная музыка.

На втором основном этапе в наушники подавались неприятные звуки высокой интенсивности (крики людей, звук сирены, неприятные шумы), которые создавали у испытуемого активацию и даже некомфортное состояние напряжения.

На третьем основном этапе испытуемых просили расслабиться, для создания состояния релаксации на мониторе демонстрировали видеоряд с горными пейзажами, при этом в наушники подавалась спокойная музыка.

Таким образом, на первом и третьем основных этапах поддерживали низкий уровень активации нервной системы, сочетающийся с переориентацией фокуса внимания первой сигнальной системы внутрь. Напротив, на втором этапе уровень возбуждения нервной системы повышался путем применения стимуляции, и происходило направление фокуса внимания на внешние процессы.

По каждому этапу вычисляли среднеквадратичное отклонение длины кардиоинтервала от длины пульсовой волны.

Для выявления возможных психофизиологических особенностей испытуемых, связанных со среднеквадратичным отклонением длины пульсовой волны от длины кардиоинтервала, использовали опросник структуры темперамента В.М. Русалова (ОСТ) и опросник выявления способов совладающего поведения Р. Лазаруса и С. Фолкмана (ССП). Опросник ОСТ, разработанный на основе авторской концепции темперамента, служит для диагностики темпераментальных особенностей человека, состоит из 105 вопросов [5]. Опросник СПП, использующийся для определения способов преодоления трудностей (копинг-стратегий), включает 50 утверждений, каждое из которых отражает определенный способ поведения в трудной или проблем-

ной ситуации. По результатам опросника определяется, насколько часто испытуемый использует ту или иную копинг-стратегию для преодоления сложных и проблемных ситуаций [7]. Эти опросники были выбраны на основе данных о том, что показатели их шкал имеют значимые корреляции с показателями вегетативного реагирования [6].

Полученные данные анализировали с помощью корреляционного анализа, для расчета корреляций использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r), значимыми считали корреляции, для которых $p < 0,05$. Различия определяли с помощью парного критерия Вилкоксона (W) и Манна—Уитни (U), значимыми считали различия, для которых $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

На основе зафиксированных данных среднеквадратичные отклонения длительности кардиоинтервалов от длительности пульсовой волны (СКО ДКИ-ДПВ) были вычислены по всем испытуемым по каждому из трех основных этапов.

Для выявления возможных связей был проведен корреляционный анализ между значениями СКО ДКИ-ДПВ и значениями по шкалам опросников ОСТ и СПП. В результате были выявлены значимые корреляции между СКО и шкалой «самоконтроль» опросника СПП на первом ($r=0,405$), втором ($r=0,411$) и третьем ($r=0,359$) этапах исследования. Это указывает на то, что расхождение ДКИ и ДПВ связано со склонностью испытуемых к целенаправленному поведению, которое состоит в подавлении активности, сдерживании своих эмоций и в стремлении к самообладанию.

Для выявления связи между вариабельностью значений СКО ДКИ-ДПВ и выраженностью склонности к использованию произвольных регуляторных процессов, определяемой по шкале «самоконтроль», всех испытуемых разделили на две группы. В первую группу вошли 15 испытуемых

Таблица. Значения среднеквадратичных отклонений разности длительности кардиоинтервалов и длительности пульсовой волны (мс) в отведении «ухо» и их стандартных отклонений для двух групп испытуемых с разной выраженностью по шкале «самоконтроль» для разных этапов исследования

Table. Root mean square values of the difference between cardio-interval and pulse wave durations (ms) from the earlobe sensor and their standard deviations for two subject groups with different self-regulation levels at different study stages

Номер этапа	Высокий уровень самоконтроля	Низкий уровень самоконтроля
1	30,3±31,2	14,3±12,6
2	22,6±18,0	16,7±15,8
3	19,0±16,3	16,2±16,6

с высокой выраженностью склонностей к целенаправленной саморегуляции (13–18 баллов), во вторую — 19 испытуемых с низкой выраженностью данного свойства (5–12 баллов).

Из таблицы видно, что СКО ДКИ-ДПВ на ушном датчике на всех этапах в первой группе выше, чем во второй. Это говорит о том, что люди с высоким уровнем сознательного контроля отличаются от испытуемых с низким уровнем самоконтроля большими значениями рассогласования ДКИ-ДПВ.

Группы также отличаются особенностями динамики СКО в зависимости от этапа исследования. Для испытуемых первой группы характерно постепенное снижение рассогласования в процессе последовательного перехода от одного этапа к другому. Представители второй группы демонстрируют другую картину: у них наблюдается

низкий уровень СКО на начальном этапе, его дальнейшее увеличение в период напряжения и незначительное снижение при переходе к спокойному состоянию. Это позволяет предположить, что психофизиологические особенности, связанные со способностью к произвольной регуляции, увеличивают степень рассогласования ДКИ-ДПВ.

Выводы

Показано, что при высоком уровне самоконтроля увеличивается среднеквадратичное отклонение длительности кардиоинтервала от длительности пульсовой волны. На этом принципе представляется возможным осуществлять непрерывный анализ уровня самоконтроля операторов сложных технических комплексов как в процессе обучения, так и в процессе управления сложным техническим комплексом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Каркищенко Н.Н., Чайванов Д.Б., Чудина Ю.А., Николаев А.А., Вартапов А.А. Дискриминантный анализ показателей согласованной работы сердца и сосудов в норме и при патологиях сосудов. *Биомедицина*. 2021;17(2):8–21. [Karkischenko N.N., Chajvanov D.B., Chudina Yu.A., Nikolaev A.A., Vartanov A.A. Diskriminantny'j analiz pokazatelej soglasovannoj raboty serdca i sosudov v norme i pri patologiyax sosudov [Discriminant analysis of indicators of coordinated heart and vascular function in normal conditions and in vascular pathologies]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2021;17(2):8–21. (In Russian)].
- Ковальчук М.В., Каркищенко Н.Н., Чайванов Д.Б., Чудина Ю.А., Николаев А.А., Вартапов А.А. Электрооптический метод диагностики нарушенного кровоснабжения головного мозга человека. *Биомедицина*. 2022;18(1):8–21. [Koval'chuk M.V., Karkischenko N.N., Chajvanov D.B., Chudina Yu.A., Nikolaev A.A., Vartanov A.A. Elektroopticheskij metod diagnostiki narushenij krovosnabzheniya golovnogo mozga cheloveka [Electro-optical method for diagnosing disorders of blood supply to the human brain]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2022;18(1):8–21. (In Russian)].
- Николаев А.А., Каркищенко Н.Н., Чудина Ю.А., Чайванов Д.Б., Вартапов А.А. Электрооптический метод дифференциальной диагностики патологий кровоснабжения головного мозга. *Биомедицина*. 2021;17(3):68–73. [Nikolaev A.A., Karkischenko N.N., Chudina Yu.A., Chajvanov D.B., Vartanov A.A. Elektroopticheskij metod differencial'noj diagnostiki patologij krovosnabzheniya golovnogo mozga [Electro-optical method for differential diagnosis

- of brain blood supply pathologies]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2021;17(3):68–73. (In Russian)].
4. Русалов В.М. *Опросник структуры темперамента*. М.: Наука, 1990:60. [Rusalov V.M. *Oprosnik struktury temperamenta [The temperament structure questionnaire]*. Moscow: Nauka Publ., 1990:60. (In Russian)].
 5. Чайванов Д.Б., Чудина Ю.А., Николаев А.А., Варганов А.А. Динамика показателей согласованной работы сердца и сосудов в условиях стресса. *Вестник психофизиологии*. 2021;2:83–92. [Chajvanov D.B., Chudina Yu.A., Nikolaev A.A., Vartanov A.A. Dinamika pokazatelej soglasovannoj raboty serdtsa i sosudov v usloviyah stressa [Dynamics of indicators of coordinated heart and vascular function under stress]. *Vestnik psihofiziologii [Bulletin of Psychophysiology]*. 2021;2:83–92. (In Russian)].
 6. Усенко А.Б., Кузьмина К.А. Вегетативный баланс как природная предпосылка процессов психической саморегуляции. *Психологические исследования: электрон. науч. журн.* 2011;3(17). [Usenko A.B., Kuz'mina K.A. Vegetativnyj balans kak prirodnyaya predposylka processov psihicheskoj samoreguljacji [Vegetative balance as a natural prerequisite for the processes of mental self-regulation]. *Psihologicheskie issledovaniya: elektron. nauch. zhurn. [Psychological Research: Electronic Scientific Journal]*. 2011;3(17). (In Russian)].
 7. Lazarus R.S., Folkman S. *Stress, appraisal, and coping*. New York: Springer, 1984:445.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

e-mail: niknik2808@yandex.ru

Nikolay N. Karkischenko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the Russian Academy of Rocket and Artillery Sciences, Corr. 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

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

e-mail: Chayvanov_DB@nrcki.ru

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

e-mail: Chayvanov_DB@nrcki.ru

Чудина Юлия Александровна, к.психол.н., ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;

e-mail: Chudina_YA@nrcki.ru

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

e-mail: Chudina_YA@nrcki.ru

Клосс Юрий Юрьевич, д.ф.-м.н., ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;

e-mail: kloss.yu@gmail.com

Yury Yu. Kloss, Dr. Sci. (Phys.-Math.), National Research Centre “Kurchatov Institute”;

e-mail: kloss.yu@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



EFFECT OF CHITOSAN ON THE ACTIVITY OF ANTIMICROBIAL AGENTS *IN VITRO*

Anna D. Beliaeva*, Galina G. Nianikova, Alfiia R. Sakhipova, Irina D. Beliaeva,
Olga Iu. Kharkova

Saint Petersburg Institute of Technology (Technical University)
190013, Russian Federation, Saint Petersburg, Moskovsky Ave., 26

The effect of chitosan on the efficacy of antimicrobial drugs was studied *in vitro*. It was established that the enterosorbents Lactofiltrum®, Chitosan Evalar®, and Enterosgel® exert no significant impact on the activity of antibiotics such as ciprofloxacin, amoxiclav, clarithromycin, and cefoperazone. Low-molecular-weight crab chitosan (molecular weight (MW): 50 kDa; degree of deacetylation (DD): 85.0%) was found to enhance the efficacy of aminoglycosides (gentamicin and kanamycin), macrolides (clarithromycin), and fluoroquinolones (lomefloxacin and ofloxacin). Medium-molecular-weight crab chitosan (MW: 83.7 kDa; DD: 89.0%) showed a reduction in ofloxacin and lomefloxacin activity by 26.7% and 24.1%, respectively. High-molecular-weight fungal chitosan derived from *Rhizopus oryzae* F-814 (MW: 400 kDa; DD: 86.8%; ATCC 9363, NRRL 395, IMI 40564) exhibited a 25.4%–57.1% increase in ofloxacin efficacy, highlighting its potential for pharmacological applications. Preliminary sorption of antibiotics onto chitosan for two hours enhanced the antimicrobial effects observed under sequential administration of antibiotic solutions into assay wells.

Keywords: chitosan, enterosorbent, antibacterial activity, antibiotic, *Rhizopus oryzae*

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

For citation: Beliaeva A.D., Nianikova G.G., Sakhipova A.R., Beliaeva I.D., Kharkova O.Iu. Effect of Chitosan on the Activity of Antimicrobial Agents *in vitro*. *Journal Biomed.* 2026;22(1):70–83. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-70-83>

Submitted 19.05.2025

Revised 07.10.2025

Published 30.04.2026

ВЛИЯНИЕ ХИТОЗАНА НА АКТИВНОСТЬ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ *IN VITRO*

А.Д. Беляева*, Г.Г. Няникова, А.Р. Сахипова, И.Д. Беляева, О.Ю. Харьковца

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный технологический институт
(технический университет)»
190013, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Московский пр., 26

Проведено исследование влияния хитозана на эффективность антимикробных препаратов в условиях *in vitro*. Установлено, что энтеросорбенты «Лактофилтрум»®, «Хитозан Эвалар»® и «Энтеросгель»® не оказывают значимого влияния на активность антибиотиков, таких как ципрофлоксацин, амоксицилин, кларитромицин и цефоперазон. Низкомолекулярный крабовый хитозан (молекулярная масса (ММ): 50 кДа; степень деацетилирования (СД): 85,0%) повысил эффективность аминогликозидов (гентамицина и канамицина), макролидов (кларитромицина) и фторхинолонов (лемефлоксацина и офлоксацина). Среднемолекулярный крабовый хитозан (ММ: 83,7 кДа; СД: 89,0%) показал снижение активности офлоксацина и лемефлоксацина на 26,7 и 24,1% соответственно. Высокомолекулярный грибной хитозан из *Rhizopus oryzae* F-814 (ММ: 400 кДа;

СД: 86,8%; ATCC 9363, NRRL 395, IMI 40564) продемонстрировал увеличение эффективности офлоксацина на 25,4–57,1%, что делает его перспективным для фармакологического применения. Предварительная сорбция антибиотиков на хитозане в течение 2 ч усиливала антимикробные эффекты, наблюдающиеся при последовательном внесении растворов в лунки.

Ключевые слова: хитозан, энтеросорбент, антибактериальная активность, антибиотик, *Rhizopus oryzae*

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Беляева А.Д., Няникова Г.Г., Сахипова А.Р., Беляева И.Д., Харьковская О.Ю. Влияние хитозана и энтеросорбентов на активность противомикробных препаратов *in vitro*. *Journal Biomed.* 2026;22(1):70–83. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-70-83>

Поступила 19.05.2005

Принята после доработки 07.10.2025

Опубликована 30.04.2026

Introduction | Введение

One of the key areas in the advancement of medical biotechnology lies in the discovery and investigation of novel bioactive compounds with antimicrobial properties — a pursuit of particular relevance in light of the escalating issue of antibiotic resistance among pathogenic microorganisms. Chitosan, a promising candidate in this context, is a natural polysaccharide obtained via the deacetylation of chitin, the primary structural component of crustacean shells, insect exoskeletons, and fungal cell walls [5, 10, 16, 21].

Chitosan has attracted considerable scientific interest due to its biocompatibility, biodegradability, low toxicity, and pronounced sorptive and antimicrobial properties. These characteristics render it highly suitable for pharmaceutical, medical, and biotechnological applications, including its use as a drug delivery vehicle, a component of wound-healing dressings and scaffolds, and as an enterosorbent [5, 9, 10, 16, 20, 21, 24].

Fungi of the *Zygomycota* phylum, particularly *Rhizopus oryzae*, constitute one of the important alternative sources of chitosan. This microorganism is widely utilised in biotechnology owing to its ability to synthesise enzymes, organic acids, and antimicrobial compounds. Furthermore, the cell wall of *R. oryzae* contains a substantial amount of chitin-chitosan complex, making it a promising candidate for

the production of chitosan of non-animal origin. Fungal chitosan offers several advantages over crustacean-derived chitosan, including reduced compositional variability, enhanced biocompatibility, and the potential for production under controlled cultivation conditions [4, 5, 18, 23].

Antibacterial agents are widely employed in contemporary medical practice and play a pivotal role in the treatment of infectious diseases. However, their use is often associated with the issue of drug-drug interactions, particularly when administered concurrently with sorbents or other biopolymers. Chitosan exhibits a high sorptive capacity, enabling it to bind not only toxic compounds but also active pharmaceutical ingredients, including antibiotics [5, 7, 10, 12, 20, 26]. Such interactions may either potentiate or diminish the antimicrobial efficacy of the drugs involved — a factor of considerable importance in clinical settings where combined therapies are employed.

Studies investigating the influence of chitosan on antibiotics have yielded conflicting results. In certain cases, chitosan has been shown to enhance antibiotic efficacy by facilitating their penetration into bacterial cells, particularly when low-molecular-weight forms are used. These smaller molecules are capable of interacting with cell membranes and increasing their permeability. Conversely, chitosan has also been reported to reduce

antibiotic activity, particularly in its high-molecular-weight forms, by adsorbing active molecules onto its surface and thereby decreasing their bioavailability [12, 17, 26, 29].

Chitosan exerts a similar influence on a range of other substances, including antifungal agents, metal ions, biologically active compounds, and dietary components. Low-molecular-weight chitosan has been shown to enhance the transport of nutrients and pharmaceutical agents across biological membranes, rendering it a promising candidate for the development of drug delivery systems. By contrast, high-molecular-weight chitosan displays pronounced adsorptive properties, which are exploited in detoxification systems, sorptive wound dressings, and dietary supplements. However, its strong binding capacity may adversely affect the bioavailability of beneficial compounds when administered orally [5, 10, 12, 29].

As a natural polymer, chitosan exhibits a broad spectrum of biological activities, among which its influence on antibiotic efficacy is of particular interest. This influence may manifest either as an enhancement or a reduction of antibacterial action, rendering the investigation of the underlying mechanisms critically important for the development of novel therapeutic strategies. The nature of this interaction is governed by multiple factors, including molecular weight, degree of deacetylation, chitosan concentration, environmental pH, the chemical structure of the antibiotics, and the susceptibility of the test microorganisms [7, 8, 17, 26].

The question of how chitosan affects antibiotic activity remains open, particularly in the context of developing new pharmaceutical formulations, medical devices, and functional supplements. The co-administration of chitosan with an antibiotic has the potential not only to enhance the antimicrobial activity of the latter, but also to impede the emergence and spread of resistance, as the two components operate via distinct mechanisms. This characteristic lends particular value to combined therapy in the context of combating an-

timicrobial resistance. Given that chitosan is predominantly utilised in oral formulations and as an enterosorbent, the present study addresses the potential of its complexes with antibiotics for enteral administration.

Although chitosan itself is not absorbed in the gastrointestinal tract, its mucoadhesive properties and ability to transiently open epithelial tight junctions can enhance the paracellular transport of co-administered drugs. In the chitosan/antibiotic complex, the polymer functions as a carrier and depot, retaining the antibiotic in the intestinal lumen while gradually releasing it for absorption.

Aim of the study | Цель работы — to evaluate the influence of chitosan on the activity of antimicrobial agents under *in vitro* conditions, to identify potential mechanisms of interaction, and to assess the feasibility of their combined use in medical practice.

In concordance with the aim, the objectives of the study were as follows: to investigate the effect of commercially available enterosorbents (Lactofiltrum[®], Chitosan Evalar[®], and Enterosgel[®]) on the activity of selected antibiotics (Amoxiclav[®], Clarithromycin[®], Cefoperazone[®], and Ciprofloxacin-Teva[®]); to assess the impact of chitosan-based sorbents with varying molecular weights (MW) and degrees of deacetylation (DD) — including Chitosan Evalar[®], chitosan from CJSC Bioprogress, BioChit[®] chitosan, and fungal chitosan derived from *Rhizopus oryzae* F-814 — on a set of antimicrobial agents comprising: ampicillin, vancomycin, gentamicin, kanamycin, clarithromycin, lomefloxacin, ofloxacin, and erythromycin; to evaluate the potential of chitosan as an adjuvant to antibiotic therapy.

Materials and Methods | Материалы и методы

Influence of enterosorbents on the *in vitro* activity of antimicrobial agents

Three enterosorbents — Lactofiltrum[®], Chitosan Evalar[®], and Enterosgel[®] — were test-

ed for their potential effects on the activity of four antimicrobial agents: Amoxiclav[®] (active ingredient (AI): amoxicillin), Clarithromycin[®] (AI: clarithromycin), Cefoperazone[®] (AI: cefoperazone), and Ciprofloxacin-Teva[®] (AI: ciprofloxacin).

The antibiotics used in this study included both commercial formulations and pure active pharmaceutical ingredients (APIs). Amoxiclav (film-coated tablets, 875 mg/125 mg, Sandoz, Austria) and ciprofloxacin (film-coated tablets, 500 mg, Teva Pharmaceutical Industries Ltd., Hungary) were employed in their commercial dosage forms. Clarithromycin and cefoperazone were obtained as pure APIs from the Department of New Technologies, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology (Saint Petersburg, Russian Federation).

The activity of the antibiotics was assessed using six test strains from the microbial collection of the Department of Microbiological Synthesis Technology at Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University). These included *Escherichia coli* (Gram-negative (Gr⁻), non-spore-forming (Sp⁻)), *Bacillus cereus* (Gram-positive (Gr⁺), spore-forming (Sp⁺)), *Staphylococcus citreus* (Gr⁺, Sp⁻), *Bacillus subtilis* (Gr⁺, Sp⁺), *Micrococcus polychromus* (Gr⁺, Sp⁻), and *Pseudomonas putida* (Gr⁻, Sp⁻). This selection enabled the evaluation of drug effects on bacteria with diverse cell wall structures and membrane permeability profiles. The chosen strains were selected based on their availability, phenotypic stability, and biosafety under standard laboratory conditions, as well as their suitability for standardised experimental procedures.

The test cultures were maintained on slant agar (GRM agar) in test tubes at 4–6°C. Subculturing was carried out periodically, once every 2–3 months.

Antimicrobial activity was assessed using the agar well diffusion method on GRM agar. Inoculum were prepared from 24-hour micro-

bial cultures and adjusted to a turbidity equivalent to 0.5 on the McFarland scale.

The composition of the GRM agar (per litre) was as follows: enzymatic hydrolysate of fishmeal — 12 g; fermentative peptone — 12 g; NaCl — 6 g; microbiological agar — 20 g; tap water — up to 1 L; final pH — 7.1 to 7.5. The medium was sterilised by autoclaving at 76 kPa for 30 minutes, then poured into sterile Petri dishes to a depth of 4 mm.

In a previous study [2], we established that the method of administration — either sequential addition or pre-mixing — did not affect the activity of ciprofloxacin in the presence of chitosan. Furthermore, experiments conducted at varying pH values (7.9 and 2.5) revealed no statistically significant effect of medium acidity on the interaction between ciprofloxacin and chitosan, nor on the antibiotic's intrinsic activity. Based on these findings, the sequential administration method was adopted for the present study.

The pH of the medium was adjusted to 7.9 in all experiments. This value was selected to model the upper physiological range of intestinal pH. According to [28], pH in the small intestine of healthy individuals ranges from 6.4 to 7.4 (median 6.9), while distal segments of the large intestine may reach up to 8.2. The review [27] further confirms that pH in the distal small intestine averages approximately 7.5 and may increase to 7.8 in the large intestine. In addition, study [1] reports a range of 7.0–8.0 as characteristic of the small intestine.

A slightly alkaline environment supports the stability and solubility of many antibiotic classes, including fluoroquinolones and macrolides, while significant degradation is typically observed only under conditions far beyond the physiological range. Moreover, a pH of 7.9 optimises the binding of antibiotics to the chitosan matrix, providing a more accurate *in vitro* simulation of conditions relevant to enteral administration. Therefore, a pH of 7.9 was chosen as a model value approximating the upper physiological boundary, ensuring

both the stability of the antibiotics and reliable assessment of their interaction with chitosan.

To ensure physiologically relevant *in vitro* conditions, the concentrations of antibiotics were selected to approximate their average plasma levels following enteral absorption, whereas the concentrations of enterosorbents (which are not systemically absorbed) were calculated in concordance with recommended therapeutic dosages to simulate their action within the intestinal lumen.

Working solutions of the antibiotics were prepared at the following AI concentrations, $\mu\text{g/mL}$: Amoxiclav[®] — 40; Clarithromycin[®] — 200; Cefoperazone[®] — 20; Ciprofloxacin[®] — 20. The enterosorbents were prepared at the following concentrations, mg/mL : Lactofiltrum[®] — 35 and 70; Chitosan Evalar[®] — 20, 40, and 80; Enterosgel[®] — 75 and 150.

The tablets were finely ground using a mortar and pestle prior to solution preparation, and the required amounts of ground tablets and API powders were dissolved in sterile distilled water. The working antibiotic solutions were prepared in sterile 10 mL glass penicillin vials, each filled to 6 mL. The enterosorbent solutions were prepared in the same manner, with the required amounts of each enterosorbent dissolved in sterile distilled water at the specified concentrations. The pH of each solution was then adjusted to the required level using 0.1 M sodium hydroxide.

It is vital to mention the stability of the antibiotics at pH 7.9. Amoxicillin retains more than 90% of its initial concentration after 24 h at pH 7–8 in aqueous solution at 37°C [22]. Ciprofloxacin is also stable within this pH range: according to [13], only moderate degradation is observed between pH 7 and 8 (approximately 84–93% of the initial content remains). Data from [25] further confirm that ciprofloxacin shows no significant degradation at pH 4–7 under dark conditions for up to 72 h, with pH-dependent photodegradation occurring only under simulated light.

Clarithromycin remains relatively stable in slightly alkaline environments: photodegradation studies indicate that at pH 7.0 less than 20% of the compound degraded after 1 h of simulated sunlight, and its stability improves slightly at higher pH values [25]. Finally, cefoperazone shows stable activity between pH 6.4 and 8.0, as confirmed by *in vitro* tests, with no loss of efficacy across this pH range [19]. Therefore, under experimental conditions employed (pH 7.9, 37°C, 48 h, absence of intense light), these antibiotics are unlikely to undergo substantial hydrolysis or inactivation.

Following solidification of the agar plates, 100 μL of the prepared microbial inoculum was applied to the surface and evenly distributed using a sterile spreader. Once the surface was dry, five wells were aseptically bored into the agar (per Petri dish) using a sterile drill. In three of the wells, solutions of antibiotic and enterosorbent were added sequentially at the specified concentrations. Wells 4 and 5 served as controls: well 4 received the antibiotic alone (AI concentrations, $\mu\text{g/mL}$: amoxicillin — 40; clarithromycin — 200; cefoperazone — 20; ciprofloxacin — 20), and well 5 received the enterosorbent alone (mg/mL : Lactofiltrum[®] — 70; Chitosan Evalar[®] — 80; Enterosgel[®] — 150). Plates were incubated at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ for 48 hours, after which the diameters of microbial growth inhibition zones were measured in millimetres (mm).

Effect of chitosan-containing sorbents on the activity of antibacterial agents

The study employed three types of crab-derived chitosan: Chitosan Evalar[®] (MW: not specified; DD: 75%), low-molecular-weight (LMW) chitosan from BioChit Research and Production Centre CJSC (MW: 50 kDa; DD: 85.0%), and medium-molecular-weight (MMW) chitosan from Bioprogress CJSC (MW: 83.7 kDa; DD: 89.0%).

The effect of chitosan on the activity of antibiotics from various pharmacological classes was investigated. The tested agents included: ampicillin (AMP; penicillins), vancomycin

(VAN; tricyclic glycopeptides), gentamicin and kanamycin (GEN and KAN, respectively; aminoglycosides), clarithromycin (CLA; macrolides), ofloxacin and lomefloxacin (OFL and LOM, respectively; fluoroquinolones), and erythromycin (ERY; macrolides). The antibiotics were provided by the Department of New Technologies at the Pasteur Institute of Epidemiology and Microbiology (Saint Petersburg, Russian Federation).

The bacterial cultures used in this study were *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*, obtained from the collection of the Department of Microbiological Synthesis Technology at Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University).

Antimicrobial activity was assessed using the agar well diffusion method on GRM agar. The medium and inoculum were prepared as described previously.

In three of the wells, 100 µL of the antibiotic-chitosan sorbent solution was added. Wells 4 and 5 served as controls, containing the antibiotic alone at a concentration of 500 µg/mL and chitosan alone at 40 mg/mL, respectively.

Stock solutions of the test substances were prepared by dissolving the required quantities in distilled water, followed by ultrasonic treatment for 15 minutes. Antibiotics were applied at concentrations of 10 and 100 µg/mL, while chitosan-containing sorbents were used at a concentration of 40 mg/mL.

Incubation was carried out at 37±1°C for 24–48 h. Antimicrobial activity was evaluated by measuring the diameters of bacterial growth inhibition zones (in mm).

For antibiotics to which the bacterial cultures exhibited resistance, the minimum inhibitory concentration (MIC) was determined using the broth microdilution method in 96-well plates, with GRM medium as the growth substrate.

The composition of GRM medium (*per litre*) was as follows: enzymatic hydrolysate of fishmeal — 12 g; fermentative peptone — 12 g; NaCl — 6 g; tap water — up to 1 L; final

pH — 7.1 to 7.5. The medium was sterilised by autoclaving at 76 kPa for 30 minutes and then dispensed into sterile microplates. Serial dilutions of antibiotics were prepared at the following concentrations (µg/mL): 500, 250, 125, 62.5, and 31.25. The inoculum was prepared as described above. Three control wells were included: (1) GRM medium only; (2) GRM medium with inoculum; and (3) GRM medium with inoculum and antibiotic at 800 µg/mL. Plates were incubated under the same conditions as described previously. MIC values were assessed visually.

Effect of fungal chitosan on the activity of antimicrobial agents

The activity of high-molecular-weight (HMW) chitosan derived from the fungus *Rhizopus oryzae* F-814 (MW: 400 kDa; DD: 86.8%) was investigated [3, 11, 14]. The strain *Rhizopus oryzae* F-814, also known as ATCC 9363, NRRL 395, and IMI 40564, was obtained from the National Bioresource Centre “All-Russian Collection of Industrial Microorganisms”. It is classified as safe and authorised for use in the food, pharmaceutical, and related industries [15]. The strain is cultivated and maintained on potato-glucose agar at the Department of Microbiological Synthesis Technology, Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University).

Potato-glucose agar and potato-glucose broth were prepared in accordance with the method described in [6].

The antimicrobial agents tested included ampicillin, kanamycin, clarithromycin, and ofloxacin. The test cultures used were *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*.

The effect of chitosan on antibiotic activity was evaluated using two different administration methods: sequential addition (as described earlier) and pre-sorption of antibiotics onto chitosan.

Antibiotic and chitosan samples were prepared as previously described, at concentrations of 100 µg/mL and 10 mg/mL, respectively.

For pre-sorption, 1 mL of chitosan solution (10 mg/mL) and 1 mL of antibiotic solution (100 µg/mL) were added to 8 mL of sterile distilled water in a sterile test tube. The mixture was agitated using a shaker (ES-60, MIULAB, Hangzhou Miu Instruments CO., LTD, People's Republic of China) at 300 rpm and 25±2°C for 2 hours. Following incubation, the supernatant was decanted and used for the agar well diffusion assay (applied volume: 100 µL).

The antimicrobial activity of the antibiotics and chitosan samples was assessed using the agar well diffusion method on GRM agar, as previously described. After 48 hours of incubation at 37±1°C, the diameters of microbial growth inhibition zones were measured in mm.

Results and Discussion | Результаты и их обсуждение

Investigation of the *in vitro* effect of enterosorbents on the activity of antimicrobial agents

The *in vitro* interaction between antimicrobial agents and enterosorbents was investigated to assess the potential impact of sorbents on antibiotic efficacy and to identify possible limitations associated with their concurrent use.

Laboratory strains of *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*, both susceptible to several of the tested agents, were used in the experiment. Although this selection does not encompass the full range of bacterial pathogens and excludes clinical isolates, it enables a preliminary assessment of the potential influence of enterosorbents on antibiotic activity. The choice of antimicrobial agents was based on the information provided in their official prescribing guidelines and corroborated by published scientific literature, indicating their efficacy against the bacterial species used in this study.

No statistically significant effect of Lactofiltrum®, Chitosan Evalar®, or Enterosgel® on the antimicrobial activity of ciprofloxacin, amoxiclav, clarithromycin, or cefoperazone was observed in the conducted experiments. These findings suggest that the tested entero-

sorbents do not induce meaningful alterations in the pharmacological efficacy of the specified antibiotics when used in combination *in vitro*.

Chitosan Evalar® and Enterosgel® exhibited no antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus citreus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus polychromus*, or *Pseudomonas putida*. However, Lactofiltrum®, at a concentration of 70 mg/mL, demonstrated antibacterial activity against *Staphylococcus citreus*, with a growth inhibition zone measuring 14±1 mm. This finding suggests the presence of additional properties in the preparation that warrant further investigation. The observed effect may be attributed to specific components within the formulation that influence the growth characteristics of certain microbial species.

The results obtained are consistent with published data on the mechanisms of action of enterosorbents, which indicate that they should not exert a significant effect on the activity of antimicrobial agents in the absence of specific binding to the active pharmaceutical ingredients. This is further supported by the observation that the microbial growth inhibition zones observed during combined application of antibiotics and enterosorbents did not differ from the control values.

Analysis of the effect of chitosan-containing sorbents on the activity of antibacterial agents

The effect of chitosan-containing sorbents on the activity of antibacterial agents was assessed against *Bacillus cereus* (Table 1) and *Escherichia coli* (Table 2). In addition, a key objective was to investigate the direct impact of the chitosan-containing sorbents on the growth of the test cultures. This allowed for the identification of any intrinsic antimicrobial activity of the sorbents themselves and provided further insight into their potential influence on the growth dynamics of bacterial cells.

BioChit® chitosan (MM: 50 kDa; DD: 85%) predominantly enhanced the activity of antibiotics, particularly against *Bacillus cereus*. This effect may be attributed to its

Table 1. Changes in antibiotic activity against *Bacillus cereus*, %

Таблица 1. Изменение активности антибиотиков в отношении *Bacillus cereus*, %

Antibiotic, µg/mL	Chitosan Evalar®	Bioproggress®	BioChit®
GEN	10	- 14.5	+ 12.5
	100	- 18.2	+ 15.7
KAN	10	not observed	observed
	100	remains unchanged	+ 21.7
CLA	10	- 21.2	+ 10.8
	100	- 20.0	+ 16.7
LOM	10	- 25.0	+ 20.0
	100	- 17.2	+ 24.6
OFL	10	- 12.5	+ 11.1
	100	- 14.3	+ 13.4

Note: “-” and “+” denote a decrease and increase by the specified value, respectively.

Примечание: «-» — уменьшение на X; «+» — увеличение на Y.

Table 2. Changes in antibiotic activity against *Escherichia coli*, %

Таблица 2. Изменение активности антибиотиков в отношении *Escherichia coli*, %

Antibiotic, µg/mL	Chitosan Evalar®	Bioproggress®	BioChit®
AMP	10	- 8.3	remains unchanged
	100	- 7.1	
GEN	10	- 9.3	remains unchanged
	100	- 12.0	
KAN	10	remains unchanged	remains unchanged
	100		
CLA	10	remains unchanged	remains unchanged
	100		
LOM	10	- 8.7	remains unchanged
	100	- 10.0	
OFL	10	remains unchanged	remains unchanged

low molecular weight, which facilitates penetration through the bacterial cell envelope or interaction with its surface. It is also possible that chitosan disrupts cell wall integrity and increases membrane permeability, thereby promoting the intracellular uptake of the antibiotic.

Bioproggress® chitosan (MM: 83.7 kDa; DD: 89%) was more frequently associated with a reduction in antibiotic activity. This effect is likely due to several factors: adsorption of antibiotics onto the surface of chitosan molecules, facilitated by its extended polymer structure; a consequent decrease in the free concentration of the antibiotic in the medium

(particularly for LMW agents); and the potential formation of insoluble complexes or physical entrapment of antibiotics by the chitosan matrix.

Chitosan Evalar® (MW: not specified; DD: 75%) exhibited a moderate inhibitory effect on antibiotic activity, which is likely attributable to its low degree of deacetylation. This would reduce the number of available amino groups involved in ionic interactions and sorption processes.

The MMW chitosan Bioproggress® predominantly exerted an inhibitory effect on the activity of most of the tested antibiotics against both *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*.

The most pronounced reduction in activity was observed with fluoroquinolones — ofloxacin and lomefloxacin — against *B. cereus*, with decreases of 26.7% and 24.1%, respectively. In the case of *E. coli*, a marked reduction in efficacy was noted for gentamicin (aminoglycoside) and erythromycin (macrolide), with activity decreasing by 2-fold and 8-fold, respectively, compared with the control.

This effect may be attributed to the sorptive properties of chitosan, which are particularly pronounced at high MW. The extended polymer structure facilitates active absorption of antibiotics from the surface of the medium. Ionic interactions between the positively charged amino groups of chitosan (especially at high degrees of deacetylation) and anionic or neutral antibiotic molecules may lead to the formation of complexes that reduce the antibiotic's availability to bacterial cells. Additionally, the observed decrease in antimicrobial activity may result from physical entrapment of the antibiotic by the chitosan macromolecule, reduced diffusion through the agar medium, and/or impaired penetration across the bacterial cell wall.

Interestingly, in the case of vancomycin against *E. coli*, the opposite effect was observed — antibiotic activity increased twofold. This may be due to the ability of MMW chitosan to transiently disrupt the barrier properties of the outer membrane in Gram-negative bacteria, thereby increasing permeability and facilitating the intracellular uptake of the antibiotic.

It was found that ampicillin, vancomycin, and erythromycin (at concentrations of 10 and 100 µg/mL), as well as kanamycin (at 10 µg/mL), did not inhibit the growth of *Bacillus cereus*. Therefore, their minimum inhibitory concentrations (MICs, µg/mL) were determined: AMP — 150; VAN — 250; KAN — 50; ERY — 250. The addition of Bioprogress® chitosan was shown to influence the antimicrobial activity against this strain, reducing the activity of ampicillin and

vancomycin by twofold, while the activity of kanamycin and erythromycin remained unchanged.

For *Escherichia coli*, the following minimum inhibitory concentrations (MICs, µg/mL) were established: VAN — 125; ERY — 250. It was observed that the addition of Bioprogress® chitosan reduced the antimicrobial activity of erythromycin eightfold. In contrast, vancomycin activity increased twofold, which may be attributed to enhanced membrane permeability in the presence of chitosan.

The results of this study demonstrate that the effect of chitosan-containing sorbents on antibiotics is influenced by their molecular weight and chemical structure. Medium- and high-MW forms of chitosan tend to reduce antibiotic activity, likely due to sorption mechanisms. In contrast, LMW chitosan not only exhibits intrinsic antimicrobial properties but also enhances the efficacy of certain antibiotics, particularly against Gram-positive bacteria. These findings highlight the need for further investigation into the mechanisms underlying chitosan-antibiotic interactions, with a view to their potential application in clinical practice. Such differences should be carefully considered in the development of combination therapies and in cases where antibiotics are co-administered with enterosorbents.

Investigation of the effect of fungal chitosan on the activity of antimicrobial agents

In the assessment of antimicrobial activity, the fungal chitosan solution derived from *Rhizopus oryzae* F-814 (10 mg/mL) exhibited inhibitory effects against *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus citreus*. The diameters of the growth inhibition zones were (mm): 29.5±1.5, 21.0±1.0 and 31.0±1.0, respectively.

The effect of HMW chitosan on antibiotic activity was assessed using both sequential administration into the agar wells and pre-sorption of antibiotics onto the chitosan matrix, across various microbial species (Table 3).

Table 3. Effect of fungal chitosan on the efficacy of antibiotics, %
Таблица 3. Влияние грибного хитозана на эффективность антибиотиков, %

Antibiotic, µg/mL	Sequential addition			Pre-sorption		
	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. citreus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. citreus</i>
AMP	R	R	+ 8.1	R	R	+ 6.2
CLA	- 6.0	- 2.8	- 3.6	- 34.4	- 16.4	- 20.7
KAN	R	+ 20.5	R	R	+ 72.7	R
OFL	+ 30.6	+ 25.4	+ 30.0	+ 36.5	+ 57.1	+ 34.7

Note: "R" — resistant.

Примечание: «R» — сопротивление.

The analysis of the effect of HMW fungal chitosan on the antimicrobial activity of various antibiotics revealed that the nature of the interaction depends on both the method of application (sequential addition or pre-sorption) and the specific combination of antibiotic and microbial species.

It was noted that HMW chitosan did not exert a significant effect on the activity of ampicillin.

Clarithromycin exhibited reduced activity against all three test cultures following the addition of fungal chitosan, with the effect being particularly pronounced after pre-sorption. A likely mechanism involves the adsorption of the macrolide onto the polysaccharide matrix, which decreases its bioavailability and diffusion within the growth medium.

B. cereus and *S. citreus* remained resistant to kanamycin under all tested conditions; however, *Escherichia coli* exhibited a marked increase in susceptibility: +20.5% following sequential addition and +72.7% after pre-sorption. This may indicate a synergistic interaction between fungal chitosan and aminoglycosides, potentially mediated by increased membrane permeability or enhanced intracellular transport of the antibiotic.

The most pronounced positive interaction was observed with ofloxacin, whose activity increased by 25.4–57.1% across all experimental conditions and against all tested bacterial strains. The effect was particularly evident following pre-sorption: +36.5% for *B. cereus*, +57.1% for *E. coli*, and +34.7%

for *S. citreus*. This enhancement may be attributed to a stabilising effect of chitosan on the antibiotic molecules, or to potentiation of fluoroquinolone penetration through the bacterial cell wall, possibly mediated by interactions with surface components of the bacterial envelope.

Pre-sorption of antibiotics onto chitosan enhanced both the positive (KAN, OFL) and negative (CLA) effects compared to sequential addition of the solutions into the wells, indicating an active role of HMW chitosan in modulating antibiotic availability.

The differences in the effects of HMW chitosan on microorganisms, compared to the experiments described in the previous section, may be attributed to variations in MW, DD, molecular geometry, the origin of the chitosan used, and other contributing factors.

Chitosan with a MW of 400 kDa forms longer and more highly branched polymer chains, characterised by high viscosity and the ability to form gel-like structures. This may result in the encapsulation of antibiotic molecules, particularly under pre-sorption conditions, thereby leading either to reduced bioavailability or to delayed release with a sustained effect. At the same time, such structures may stabilise antibiotics under harsh conditions and promote their diffusion into bacterial cells — provided that the degree of sorption is not excessive, as exemplified by the case of ofloxacin.

Although both chitosans possess amino groups and a similar degree of deacetylation, the larger molecules (400 kDa) may exhibit

a higher overall sorption capacity — but not necessarily greater specificity. Chitosan with a MW of 83.7 kDa is less branched and may more effectively retain antibiotics on its surface, thereby reducing their activity by preventing their release, particularly under conditions of sequential administration.

Fungal chitosan (400 kDa) may also form semi-colloidal systems that distribute the antibiotic differently compared to the more “soluble” and mobile 83.7 kDa chitosan. Such differences influence the diffusion of the antibiotic through the agar medium and, consequently, affect the size of the inhibition zones.

In addition to molecular weight, chitosan derived from *R. oryzae* differs in chain conformation, purity level, and even surface charge. These characteristics may either enhance or weaken its interactions with specific antibiotics — such as macrolides (e.g., clarithromycin) — resulting in either reduced activity or potentiation of the antimicrobial effect.

The findings confirm that the interaction between chitosan and antibiotics cannot be regarded as a passive physical coexistence within the medium. On the contrary, chitosan is capable of actively modulating the behaviour of antibiotic molecules by altering their spatial distribution, free concentration, and availability for interaction with bacterial cells. Owing to its functional groups — primarily cationic amino groups — chitosan can engage in ionic, hydrogen bonding, and hydrophobic interactions with antibiotics, thereby influencing molecular stability, bioavailability, cell wall permeability, and delivery mechanisms. Thus, chitosan plays an active modulatory role within such systems, impacting the pharmacodynamics of antibiotics even *in vitro*, which is particularly important to consider in the development of combined therapeutic formulations.

The results underscore the necessity of a differentiated approach when selecting sorbents and antibiotics for combined

use, particularly in clinical therapy. The application of chitosan in combination with antibiotics requires careful consideration of its physicochemical properties, the mechanisms of interaction with drug molecules, and the structural features and susceptibility profiles of the target microorganisms.

Conclusion | Заключение

The enterosorbents Lactofiltrum[®], Chitosan Evalar[®], and Enterosgel[®] did not exhibit a significant effect on the activity of the tested antibiotics — amoxicillin, clarithromycin, ciprofloxacin, and cefoperazone.

Chitosan Evalar[®] (40 mg/mL) demonstrated inhibitory effects at both 10 and 100 µg/mL concentrations against gentamicin, clarithromycin, lomefloxacin, and ofloxacin in *Bacillus cereus*, as well as ampicillin, gentamicin, lomefloxacin, and ofloxacin (only at 10 µg/mL) in *Escherichia coli*.

Low-molecular-weight chitosan (MW: 50 kDa; DD: 85%) enhanced the efficacy of gentamicin, kanamycin, clarithromycin, lomefloxacin, and ofloxacin against *B. cereus*.

Medium-molecular-weight crab chitosan (MW 83.7 kDa; DD 89%) reduced the activity of fluoroquinolone antibiotics (lomefloxacin and ofloxacin at both 10 and 100 µg/mL) by 8.3–24.1% against *B. cereus* and *E. coli*.

High-molecular-weight fungal chitosan (MW: 400 kDa; DD: 86.8%) derived from *Rhizopus oryzae* F-814 (at 40 mg/mL) inhibited the growth of *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, and *Staphylococcus citreus*. In addition, fungal chitosan enhanced the activity of kanamycin and ofloxacin following pre-sorption and reduced the activity of clarithromycin.

It is worth noting that the materials with molecular weights of 83.7 kDa and 400 kDa, although both formally classified as high-molecular-weight forms of chitosan, exhibit fundamentally different behaviours in *in vitro* biological models. These differences are attributable not only to the absolute molecular

weight but also to a combination of functional characteristics that determine the actual activity of the substance in solution and in its interaction with antibiotics.

Thus, when selecting chitosan for medical and biotechnological applications, it is advisable to consider not only its molecular weight but also a comprehensive set of functional parameters, including: polydispersity; solubility at physiological pH; chain architecture; intrinsic viscosity and gel-forming capacity; surface charge and ion-exchange potential (as determined by the degree of deacetylation); degree of crystallinity/ amorphousness; particle

size and morphology; origin and purity (animal- or fungal-derived, presence of copolymers or impurities); and thermal stability.

A comprehensive assessment of these properties will enable more accurate prediction of chitosan's behaviour within pharmaceutical formulations, including its impact on antibiotic bioavailability, sorptive activity, and potential synergistic or antagonistic effects.

The findings highlight the necessity of an integrated approach to evaluating the combined use of antibiotics and polysaccharide-based sorbents in the development of combined therapeutic strategies.

REFERENCES | СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ершов Ю.А., Попков В.А., Берлянд А.С., Книжник А.З. Глава 3. Ионные равновесия и обменные реакции в растворах. *Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов*. Под ред. Ершова Ю.А. 4-е изд., стр. М.: Высшая школа, 2003:105–106. [Ershov Yu.A., Popkov V.A., Berlyand A.S., Knizhnik A.Z. Glava 3. Ionnyye ravnovesiia i obmennyye reaktsii v rastvorakh [Chapter 3. Ionic equilibria and exchange reactions in solutions]. *Obshchaia khimiia. Biofizicheskaia khimiia. Khimiia biogennykh elementov* [General Chemistry. Biophysical Chemistry. Chemistry of Biogenic Elements]. Ed. by Ershov Yu.A. 4th ed. Moscow: Vysshiaia shkola Publ., 2003:105–106. (In Russian)].
2. Минина А.А., Беляева А.Д., Няникова Г.Г. Влияние хитозана на некоторые лекарственные препараты. *Мат-лы науч. конф. «Традиции и инновации», посвященной 188-й годовщине образования Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета)*. 2016;155. [Minina A.A., Beliaeva A.D., Nianikova G.G. Vliianie khitozana na nekotorye lekarstvennyye preparaty [Influence of chitosan on some drugs]. *Mat-ly nauch. konf. "Traditsii i innovatsii", posviashchionnoj 188-j godovschchine obrazovaniia Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo technologicheskogo instituta (tehnikeskogo universiteta)* [Proceedings of the Scientific Conference "Traditions and Innovations" dedicated to the 188th anniversary of the Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University)]. 2016;155. (In Russian)].
3. Нестерова Е.А., Летавина Е.Н., Няникова Г.Г. Влияние хитозана на активность противомикробных препаратов. *Устойчивое развитие науки и образования*. 2021;1:98–103. [Nesterova Ie.A., Letavina Ie.N., Nianikova G.G. Vliianie khitozana na aktivnost' protivomikrobnnykh preparatov [The effect of chitosan on the activity of antimicrobial drugs]. *Ustoichivoie razvitiie nauki i obrazovaniia* [Sustainable Development of Science and Education]. 2021;1:98–103. (In Russian)].
4. Няникова Г.Г., Комиссарчик С.М., Хрусталёва М.В. Исследование условий культивирования гриба *Rhizopus oryzae* для получения молочной кислоты и биосорбента. *Известия СПбГТИ (ТУ)*. 2012;17(43):56–60. [Nianikova G.G., Komissarchik S.M., Khrustaliova M.V. Issledovanie uslovii kul'tivirovaniia griba *Rhizopus oryzae* dlia polucheniia molochnoi kisloty i biosorbenta [Study of the cultivation conditions of the fungus *Rhizopus oryzae* for lactic acid and biosorbent production]. *Izvestia SPbGTI (TU)* [Bulletin of SPbSIT (TU)]. 2012;17(43):56–60. (In Russian)].
5. Няникова Г.Г., Маметнабиев Т.Э., Калинин И.П., Гепецкая М.В., Комиссарчик С.М., Елдинова Е.Ю. Области применения хитозана. *Известия СПбГТИ (ТУ)*. 2007;2(28):20–26. [Nianikova G.G., Mametnabiev T.E., Kalinkin I.P., Gepetskaya M.V., Komissarchik S.M., Ieldinova Ie.Iu. Oblasti primeneniia khitozana [Chitosan applications]. *Izvestia SPbGTI (TU)* [Bulletin of SPbSIT (TU)]. 2007;2(28):20–26. (In Russian)].
6. Няникова Г.Г., Минина А.А., Беляева А.Д. Влияние состава питательной среды на рост гриба *Rhizopus oryzae*. *Известия СПбГТИ (ТУ)*. 2018;(45):82–86. [Nianikova G.G., Minina A.A., Belyaeva A.D. Vliianie sostava pitatel'noi sredy na rost griba *Rhizopus oryzae* [Effect of nutrient medium composition on the growth of the fungus *Rhizopus oryzae*]. *Izvestia SPbGTI (TU)* [Bulletin of SPbSIT (TU)]. 2018;(45):82–86. (In Russian)].
7. Попова Э.В., Коваленко Н.М., Тютюрев С.Л., Домнина Н.С., Колесников Л.Е., Борисова Е.А. Биологическая активность хитозана с разной мо-

- лекулярной массой. *Вестник защиты растений*. 2017;3(93):28–33. [Popova E.V., Kovalenko N.M., Tiuterev S.L., Domnina N.S., Kolesnikov L.Ie., Borisova Ie.A. Biologicheskaiia aktivnost' khitozana s raznoi molekuliarnoi massoi [Biological activity of chitosan with different molecular weights]. *Vestnik zaschity rastenii [Plant protection news]*. 2017;3(93):28–33. (In Russian)].
8. Сафронова Т.М., Максимова С.Н., Ситникова Е.В. Исследование влияния молекулярной массы хитозана на его антимикробную активность в пищевых средах. *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2009;3:22–26. [Safronova T.M., Maksimova S.N., Sitnikova Ie.V. Issledovaniie vliianiia molekuliarnoi massy khitozana na ego antimicrobnuiu aktivnost' v pishchevykh sredakh [Study of the effect of chitosan molecular weight on its antimicrobial activity in food media]. *Hraneniie i pererapotka selkhozsyriia [Storage and Processing of Farm Products]*. 2009;3:22–26. (In Russian)].
 9. Халимов Р.И., Омелько Н.А., Русин Е.Е. Об отдельных аспектах характеристики образцов хитозана в биомедицинских исследованиях. *Научное обозрение. Биологические науки*. 2022;(4):122–130. [Khalimov R.I., Omelko N.A., Rusin E.E. Ob ot-del'nykh aspektakh kharakterizatsii obraztsov khitozana v biomeditsinskikh issledovaniyakh [On certain aspects of chitosan sample characterization in biomedical research]. *Nauchnoe obozrenie. Biologicheskie nauki [Scientific Review. Biological Sciences]*. 2022;(4):122–130. (In Russian)]. DOI: 10.17513/srbs.1305.
 10. *Хитозан*. Под ред. К.Г. Скрябина, С.Н. Михайлова, В.П. Варламова. М.: Центр «Биоинженерия» РАН, 2013:596. [*Chitosan [Chitosan]*. Ed. by K.G. Skriabin, S.N. Mikhailov, V.P. Varlamov. Moscow: Tsentr "Bioinzheneriia" RAN Publ., 2013:596. (In Russian)].
 11. Юркина Н.О., Няникова, Г.Г. Влияние хитозана на активность антибиотиков в отношении *Escherichia coli*. *Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии*. 2020;463–464. [Turkina N.O., Nianikova G.G. Vliianiie khitozana na aktivnost' antibiotikov v otnoshenii *Escherichia coli* [Effect of Chitosan on the Activity of Antibiotics Against *Escherichia coli*]. *Aktual'nyie voprosy organicheskoi khimii i biotekhnologii [Actual Problems of Organic Chemistry and Biotechnology]*. 2020;463–464. (In Russian)].
 12. Abd El-Monaem E.M., Eltaweil A.S., Elshishini H.M., Hosny M., Abou Alsoaud M.M., Attia N.F., El-Subriiri G., Omer A.M. Sustainable adsorptive removal of antibiotic residues by chitosan composites: An insight into current developments and future recommendations. *Arabian J. of Chemistry*. 2022;15(5):e103743. DOI: 10.1016/j.arabjc.2022.103743.
 13. Ali K.F. Estimation and evaluation of the effect of pH on ciprofloxacin in drug formulations. *J. of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2014;6(4):910–916.
 14. Beliaeva A., Nianikova G., Rostovtseva P. Chitin-chitosan complex from *Rhizopus oryzae* obtained on a pea culture medium, and some of its physicochemical properties. E3S Web of Conferences. 2020;215:e06001. DOI: 10.1051/e3sconf/202021506001.
 15. Cantabrana I., Perise R., Hernández I. Uses of *Rhizopus oryzae* in the kitchen. *Int. J. of Gastronomy and Food Science*. 2015;2(2):103–111. DOI: 10.1016/j.ijgfs.2015.01.001.
 16. Dou X., Fan N., Yang J., Zhang Z., Wu B., Wei X., Shi Sh., Zhang W., Feng Y. Research progress on chitosan and its derivatives in the fields of corrosion inhibition and antimicrobial activity. *Environmental Science and Pollution Research*. 2024;31(21):30353–30369. DOI: 10.1007/s11356-024-33351-5.
 17. Goy R.C., Britto D.D., Assis O.B. A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polimeros*. 2009;19:241–247. DOI: 10.1590/S0104-14282009000300013.
 18. Groff M.C., Noriega S.E., Gil R.M., Pantano N., Scaglia G. Dynamic optimization of lactic acid production from grape stalk solid-state fermentation with *Rhizopus oryzae* applying a variable temperature profile. *Fermentation*. 2024;10(2):e101. DOI: 10.3390/fermentation10020101.
 19. Hinkle A.M., LeBlanc B.M., Bodey G.P. In vitro evaluation of cefoperazone. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1980;17(3):423–427. DOI: 10.1128/aac.17.3.423.
 20. Isa M.T., Abdulkarim A.Y., Bello A., Bello T.K., Adamu Y. Synthesis and characterization of chitosan for medical applications: A review. *J. of Biomaterials Applications*. 2024;38(10):1036–1057. DOI: 10.1177/08853282241243010.
 21. Ke C.L., Deng F.S., Chuang C.Y., Lin C.H. Antimicrobial actions and applications of chitosan. *Polymers*. 2021;13(6):e904. DOI: 10.3390/polym13060904.
 22. Kerek Á., Ecsedi B.G., Szabó Á., Szimrök Z., Paliczné Kustán B., Jerzsele Á., Nagy G. Stability studies of the dilution series of different antibiotic stock solutions in culture medium incubated at 37 °C. *Antibiotics*. 2024;13(6):549. DOI: 10.3390/antibiotics13060549.
 23. Mahfoudhi A., Ben Mabrouk S., Hadrich B., Mhadhbi M., Abderrazak H., Alghamdi O. A., Fendri A., Sayari A. Efficient green enzymatic synthesis of lipophilic piperic acid esters by immobilized *Rhizopus oryzae* lipase: optimization and antioxidant activities. *Catalysis Letters*. 2024;154(8):4283–4301. DOI: 10.1007/s10562-024-04650-w.
 24. Mustafa A., Cadar E., Sirbu R. Pharmaceutical uses of chitosan in the medical field. *Eur. J. of Medicine and Natural Sciences*. 2020;3(2):31–36. DOI: 10.26417/ejns.v1i3.p35-40.
 25. Rodríguez-López L., Cela-Dablanca R., Núñez-Delgado A., Álvarez-Rodríguez E., Fernández-Calviño D., Arias-Estévez M. Photodegradation of ciprofloxacin, clarithromycin and trimethoprim: influence of pH and humic acids. *Molecules*. 2021;26(11):3080. DOI: 10.3390/molecules26113080.

26. Said H.A., Elbaza H., Lahcini M., Barroug A., Noukrati H., Youcef H.B. Development of calcium phosphate-chitosan composites with improved removal capacity toward tetracycline antibiotic: adsorption and electrokinetic properties. *Int. J. of Biological Macromolecules*. 2024;257:e128610. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.128610.
27. Yamamura R., Inoue K.Y., Nishino K., Yamasaki S. Intestinal and fecal pH in human health. *Frontiers in Microbiomes*. 2023;2:1192316. DOI: 10.3389/frm-bi.2023.1192316.
28. Yao C.K., Burgell R.E., Taylor K.M., Ward M.G., Friedman A.B., Barrett J.S., Muir J.G., Gibson P.R. Effects of fiber intake on intestinal pH, transit, and predicted oral mesalamine delivery in patients with ulcerative colitis. *J. of Gastroenterology and Hepatology*. 2021;36(6):1580–1589. DOI: 10.1111/jgh.15311.
29. Zheng L.Y., Zhu J.F. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. *Carbohydrate Polymers*. 2003;54(4):527–530. DOI: 10.1016/j.carbpol.2003.07.00

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS | СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Anna D. Beliaeva*, Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University);
e-mail: belyaeva_any@mail.ru

Galina G. Nianikova, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University);
e-mail: galanyan@mail.ru

Alfiya R. Sakhipova, Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University);
e-mail: alfiya.sakhipova@mail.ru

Irina D. Beliaeva, Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University);
e-mail: belyaevairina97@gmail.com

Olga Iu. Kharkova, Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University);
e-mail: olga.kharkova.04@gmail.com

Беляева Анна Дмитриевна*, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)»;
e-mail: belyaeva_any@mail.ru

Няникова Галина Геннадьевна, к.б.н., доц., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)»;
e-mail: galanyan@mail.ru

Сахипова Альфия Ринатовна, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)»;
e-mail: alfiya.sakhipova@mail.ru

Беляева Ирина Дмитриевна, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)»;
e-mail: belyaevairina97@gmail.com

Харькова Ольга Юрьевна, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)»;
e-mail: olga.kharkova.04@gmail.com

* Corresponding author / Автор, ответственный за переписку



ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ПРОТИВ ХОЛЕРЫ НА МОДЕЛИ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК

Н.Е. Гаевская¹, В.В. Евдокимова^{1,*}, Л.П. Алексеева¹, О.А. Якушева¹, И.А. Иванова¹,
А.В. Тюрина¹, М.П. Погожова¹, М.В. Овчинникова², А.В. Комиссаров², Е.А. Глазкова²,
К.С. Гумаюнова², А.К. Никифоров²

¹ ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора»
344002, Российская Федерация, Ростов-на-Дону, ул. Максима Горького, 117/40

² ФКУН «Российский противочумный институт "Микроб" Роспотребнадзора»
410005, Российская Федерация, Саратов, ул. Университетская, 46

Целью исследования явилась оценка безопасности экспериментального противохолерного препарата на основе бактериофагов, энтеросорбентов и специфических иммуноглобулинов. На модели клеточных линий СНО-К1 (овариальные клетки китайского хомячка) и NuTu 80 (клетки аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека) изучали цитотоксическое действие вариантов комбинированного противохолерного лечебно-профилактического препарата и его отдельных компонентов: иммуноглобулинов, хинозола, пектина, полисорба. Установили, что действие иммуноглобулинов, пектина и консерванта хинозола на перевиваемые клеточные линии СНО-К1 и NuTu 80 сопровождается вакуолизацией цитоплазмы, округлением и гибелью клеток, тогда как полисорб-МП и холерные бактериофаги аналогичных изменений не вызывают. Учитывая полученные результаты экспериментальных исследований, определен оптимальный состав нового экспериментального противохолерного лечебно-профилактического препарата: энтеросорбент полисорб-МП, холерные бактериофаги Rostov-13+Rostov-M3 и специфические иммуноглобулины — нетоксичный и безопасный для клеток макроорганизма.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, холерные бактериофаги, иммуноглобулины, энтеросорбенты, профилактический препарат, клеточные линии, цитотоксичность

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования: работа выполнена в рамках научно-исследовательской работы «Разработка экспериментального сочетанного лечебно-профилактического препарата против холеры на основе иммуноглобулинового комплекса и коктейля бактериофагов» (НИР № 228-4-24).

Для цитирования: Гаевская Н.Е., Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Якушева О.А., Иванова И.А., Тюрина А.В., Погожова М.П., Овчинникова М.В., Комиссаров А.В., Глазкова Е.А., Гумаюнова К.С., Никифоров А.К. Оценка безопасности экспериментального лечебно-профилактического препарата против холеры на модели культуры клеток. *Биомедицина*. 2026;22(1):84–98. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-84-98>

Поступила 15.08.2025

Принята после доработки 17.11.2025

Опубликована 30.04.2026

SAFETY ASSESSMENT OF AN EXPERIMENTAL THERAPEUTIC AND PROPHYLACTIC ANTI-CHOLERA AGENT IN A CELL CULTURE MODEL

Natalia E. Gaevskaya¹, Veronica V. Evdokimova^{1,*}, Ludmila P. Alekseeva¹, Olga A. Yakusheva¹, Inna A. Ivanova¹, Anna V. Tyurina¹, Marina P. Pogozhova¹, Maria V. Ovchinnikova², Alexander V. Komissarov², Ekaterina A. Glazkova², Kristina S. Gumayunova², Aleksey K. Nikiforov²

¹ Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing
344002, Russian Federation, Rostov-on-Don, Maxim Gorky Str., 117/40

² Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing
410005, Russian Federation, Saratov, Universitetskaya Str., 46

The study aimed to evaluate the safety of an experimental anti-cholera agent based on bacteriophages, enterosorbents, and specific immunoglobulins. The cytotoxic effects of various formulations of this therapeutic/prophylactic agent and its individual components (immunoglobulins, chinisol, pectin, and Polysorb) was studied using CHO-K1 (Chinese hamster ovary) and HuTu 80 (human duodenal adenocarcinoma) cell line models. Immunoglobulins, pectin, and the preservative chinisol were found to induce cytoplasmic vacuolization, along with cell rounding and death in both cell lines. Conversely, Polysorb MP and cholera bacteriophages did not cause similar changes. Based on the experimental findings, the optimal composition for the new experimental therapeutic/prophylactic agent against cholera was determined: Polysorb-MP, cholera bacteriophages (Rostov-13+Rostov-M3), and specific immunoglobulins, which is a non-toxic and safe formulation.

Keywords: *Vibrio cholerae*, cholera bacteriophages, immunoglobulins, enterosorbents, prophylactic agent, cell lines, cytotoxicity

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

Funding: the study was conducted within the research project "Development of an experimental combined therapeutic and prophylactic drug against cholera based on an immunoglobulin complex and a cocktail of bacteriophages" (RP No. 228-4-24).

For citation: Gaevskaya N.E., Evdokimova V.V., Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Ivanova I.A., Tyurina A.V., Pogozhova M.P., Ovchinnikova M.V., Komissarov A.V., Glazkova E.A., Gumayunova K.S., Nikiforov A.K. Safety Assessment of an Experimental Therapeutic and Prophylactic Anti-Cholera Agent in a Cell Culture Model. *Journal Biomed.* 2026;22(1):84–98. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-84-98>

Submitted 15.08.2025

Revised 17.11.2025

Published 30.04.2026

Введение

Анализ состояния проблемы увеличения числа устойчивых к антибиотикам штаммов холерных вибрионов, расширение спектра антибиотикорезистентности на современном этапе седьмой пандемии холеры обусловили необходимость привлечения альтернативных средств для профилактики и лечения холеры. В числе антимикробных препаратов могут

быть и бактериофаги, безопасность и эффективность которых в качестве бактерицидных агентов доказана при многих инфекциях [2, 4, 18, 28], включая и вызванные антибиотикоустойчивыми возбудителями [24]. Список этих препаратов дополняют специфические иммуноглобулины, полученные от гипериммунных животных, обладающие нейтрализующим и антиадгезивным действием.

В частности, лечение и профилактика желудочно-кишечных инфекций, вызванных энтеральными патогенами вирусной и бактериальной природы, у восприимчивых к ним людей, в т.ч. с иммунодефицитными заболеваниями, осуществляется путем перорального применения специфических антител [27].

Зарубежными и отечественными исследователями проводились работы по изучению антибактериальной эффективности совместного применения бактериофагов и специфических иммуноглобулинов (IgG), иммуноглобулинов из молозива крупного рогатого скота и пробиотических бактерий, куриного иммуноглобулина Y (IgY) при лечении и профилактике острых кишечных инфекций (ОКИ) бактериальной и вирусной природы [21, 25, 26]. Так, в ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора получен лактоглобулин против условно-патогенных бактерий и сальмонелл, который представляет собой фракцию иммуноглобулинов молозивной сыворотки коров (IgG, IgA, IgM), предварительно вакцинированных против комплекса возбудителей (сальмонеллы, клебсиеллы, протей, псевдомонады). Препарат обладает антибактериальным, антитоксическим, иммуномодулирующим действием, совместим с антибиотиками и бактериофагами, препаратами нормофлоры. При изучении совместного лечебного действия лактоглобулина и сальмонеллезного бактериофага особое значение придавали срокам элиминации возбудителя из органов животных. В опытах с экспериментальной сальмонеллезной инфекцией у мышей отмечена положительная динамика выведения из организма возбудителя, уменьшение тяжести и длительности течения заболевания. В группах мышей, леченных лактоглобулином совместно с бактериофагом, элиминация возбудителя из органов происходила в 1,5 раза быстрее, чем в группах животных, получавших монопрепараты [1].

Как правило, действие иммуноглобулинов, вводимых перорально, направлено на достижение эффекта в определенном отделе пищеварительного тракта и основано на специфическом взаимодействии «антиген — антитело». В защите организма хозяина предполагается несколько механизмов действия: блокирование адгезии микроорганизмов к поверхности клеток, подавление вирусной колонизации путём предотвращения распространения вируса от клетки к клетке, бактериальная агглютинация, приводящая к иммобилизации и гибели микроорганизмов, снижение активности ферментов и нейтрализация продуцируемых токсинов. Как известно, протективный иммунитет при холере обусловлен главным образом наличием антител, которые продуцируются местно (на слизистой оболочке) и выделяются в просвет кишечника. Эти антитела блокируют колонизацию кишечника холерными вибрионами, последующее размножение бактерий и инактивируют действие холерного токсина [5]. В качестве иммобилизованного агента иммуноглобулины также используются при конструировании иммуноэнтеросорбентов в целях извлечения антигенов из сложных смесей. Иммуноэнтеросорбенты удобны как в качестве лечебного, так и в качестве профилактического средства для создания местного пассивного иммунитета при угрозе заболевания в неблагоприятной эпидемиологической обстановке. В связи с этим получение специфических иммуноглобулинов, активных в отношении возбудителя холеры, является оправданным для разработки профилактических средств.

Хотя иммуноглобулины, вводимые перорально, подвержены деградации под действием протеолитических ферментов в желудочно-кишечном тракте, исследования показали, что часть введенной дозы сохраняет иммунологическую активность [27]. Стабильность IgG обусловлена структурными свойствами молекул, в т.ч. внутри- и межцепочечными дисульфидными связями, сахарами, добавля-

емыми после транскрипции, и трёхмерными свёрнутыми доменами. Даже при частичном расщеплении протеолитическими ферментами фрагменты Fab сохраняют не только связывающую, но и нейтрализующую активность в пищеварительном тракте, что делает их привлекательными натуральными терапевтическими средствами для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта и уменьшения вреда, наносимого бактериальными энтеротоксинами, эндотоксинами и секретируемыми экзотоксинами [20].

При разработке новых средств лечения больных ОКИ в их состав вводят и вещества, обладающие энтеросорбционными свойствами [12]. Энтеросорбция при инфекционных заболеваниях является не только патогенетическим способом терапии, но и этиотропным, поскольку сорбенты способны поглощать как эндо- и экзотоксины возбудителей, так и фиксировать на своей поверхности бактериальные клетки и вирусы, исключая их таким образом из патологического процесса [6]. Кроме того, активно развивается направление, когда путем иммобилизации на энтеросорбентах специфических лигандов и рецепторов им придают избирательность, т.е. получают энтеросорбенты с прогнозируемыми свойствами, в т.ч. с определенной антитоксической направленностью [10]. Очевидно, что включение различных энтеросорбентов в состав профилактических препаратов может оказывать быстрый дезинтоксикационный, гипотермический и антидиарейный клинические эффекты [8, 9, 11].

Известными преимуществами фагопрофилактики являются отсутствие побочных эффектов, совместимость с любыми фармакологическими препаратами, безопасность для клеток высших организмов, высокая специфичность в отношении бактериального патогена. Для использования в лечебных и профилактических целях необходимо подбирать исключительно вирулентные фаги, изучать их биологические и генетические

свойства, а также проверять безопасность для макроорганизма [15].

Специалистами ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора» сконструированы 4 комплексных противохолерных лечебно-профилактических препаратов на основе специфических иммуноглобулинов, холерных бактериофагов и энтеросорбентов. При разработке новых препаратов, предназначенных для применения у людей, необходимо тщательно исследовать их биологическое действие и безопасность для макроорганизма.

Цель работы — оценить биологическую активность и безопасность экспериментального комплексного лечебно-профилактического противохолерного препарата на модели культуры клеток.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы. Для размножения холерных фагов использовали индикаторные культуры *V. cholerae* El Tor KM 199 (P-13169, ctx-tcp⁺), KM 2157 (20554, ctx-tcp⁻). Для постановки реакции агглютинации в микрообъеме и анализа ингибирования подвижности использовали токсигенные штаммы: *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa № 6878 (№ 19242, ctx⁺tcp⁺), *V. cholerae* O1 El Tor Inaba № 5879 (ctx⁺tcp⁺). Штаммы микроорганизмов были получены из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора».

Препарат иммуноглобулина. Лошадиный противохолерный иммуноглобулин (5 мг/мл белка) был получен на базе лаборатории диагностических препаратов ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора» путем иммунизации лабораторных животных цельноклеточным антигеном, состоящим из убитых нагреванием штаммов *V. cholerae* O1 classical

Ogawa M-41 и *V. cholerae* O1 classical Inaba 25. Осаждение иммуноглобулинов класса G из гипериммунной сыворотки проводили насыщенным р-ром сульфата аммония с последующей очисткой на хроматографической колонке. Для предотвращения микробной контаминации иммуноглобулины консервировали хинозолом (8-оксихинолон) в конечной концентрации в белковом препарате 0,05%.

Бактериофаги. В работе использовали полученные из коллекции-депозитария лаборатории бактериофагов ФКУЗ «Ростовский-на-дону противочумный институт Роспотребнадзора» вирулентные холерные бактериофаги: Rostov-M3, Rostov-13, активные в отношении холерных вибрионов O1-серогруппы.

Энтеросорбенты. Использовали полисорб-МП (кремния диоксид коллоидный) (ЗАО «Полисорб», Россия) и пектин (яблочный пищевой Val'de, являющийся пищевой добавкой E440 (ООО «ОК-Групп», Россия)) в различных концентрациях.

Экспериментальные лечебно-профилактические препараты. После этапа предварительных исследований на базе ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора» были созданы четыре варианта комплексного перорального про-

тивохолерного лечебно-профилактического препарата на основе холерных бактериофагов Rostov-M3 и Rostov-13, энтеросорбентов полисорба и пектина в концентрациях 2,5% и 5%, а также специфических иммуноглобулинов (5 мг/мл) (табл. 1).

Постановка реакции агглютинации микрометодом. Постановку реакции агглютинации в микрообъеме проводили в соответствии с МУК 4.2.3745-22 [7].

Анализ ингибирования подвижности. Изучение влияния комплексного препарата, содержащего специфические противохолерные иммуноглобулины, на подвижность холерных вибрионов проводили с помощью методики [23] с нашими модификациями. Из суточных агаровых культур готовили бактериальные взвеси 3×10^6 м.к./мл, аликвоту 10 мкл смешивали 1:1 с ФСБ и в объеме 5 мкл наносили уколом в чашку с 0,3% агаром Мартена pH=7,8±0,2. Инкубировали лицевой стороной вверх при 37°C в течение 24 ч. Для ингибирования подвижности использовали иммуноглобулин и варианты комплексного противохолерного препарата в таком же объеме. Подвижность определяли путём измерения диаметра ореола на агаре. В случае ингибирования подвижности холерные вибрионы прорастали в точке инокуляции, тогда как подвижные разрастались по агару.

Таблица 1. Варианты состава экспериментального комплексного противохолерного лечебно-профилактического препарата

Table 1. Formulations of the experimental therapeutic/prophylactic anti-cholera agent

Препарат	Состав
I	Смесь холерных бактериофагов Rostov-M3 и Rostov-13 ($n \times 10^8$ – $n \times 10^9$ БОЕ/мл) Раствор Полисорба 2,5% Иммуноглобулин холерный O1 лошадиный (содержание белка 5 мг/мл)
II	Смесь холерных бактериофагов Rostov-M3 и Rostov-13 ($n \times 10^8$ – $n \times 10^9$ БОЕ/мл) Раствор Полисорба 5% Иммуноглобулин холерный O1 лошадиный (содержание белка 5 мг/мл)
III	Смесь холерных бактериофагов Rostov-M3 и Rostov-13 ($n \times 10^8$ – $n \times 10^9$ БОЕ/мл) Раствор Пектина 2,5% Иммуноглобулин холерный O1 лошадиный (содержание белка 5 мг/мл)
IV	Смесь холерных бактериофагов Rostov-M3 и Rostov-13 ($n \times 10^8$ – $n \times 10^9$ БОЕ/мл) Раствор Пектина 5% Иммуноглобулин холерный O1 лошадиный (содержание белка 5 мг/мл)

Подготовка клеточных линий к тестированию. Клеточные линии СНО-К1 (овариальные клетки китайского хомячка) и HuTu 80 (клетки аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека) (Центр коллективного пользования «Коллекция культур клеток позвоночных», Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург) культивировали согласно паспортным данным во флаконах Т-25 в CO₂-инкубаторе («Sanyo», Япония) при 37°C, концентрации CO₂ 5%, влажности не менее 70%. Клетки для тестирования экспериментальных препаратов высевали в лунки 96-луночного планшета в дозе 5000 шт./лунку. Через сутки после распластывания клеток их трижды промывали р-ром Хенкса (рН=7,0–7,4) и в лунки вносили экспериментальные образцы, после чего инкубировали в течение ночи при 37°C в 5% CO₂. Учёт проводили с помощью инвертированного микроскопа при различном увеличении объекта (20×4, 40×4, 100×4), изучали морфологию клеток, сравнивая с контрольными (интактными). Все этапы работы с перевиваемыми линиями клеток выполняли в соответствии с рекомендациями [16].

Подготовка экспериментальных препаратов для тестирования на клеточных линиях. Исследуемые комплексные препараты № I, II, III, IV, а также исходный препарат лошадиного противохолерного иммуноглобулина (5 мг/мл), бактериофаги Rostov-M3 и Rostov-13, полисорб-МП, пектин, консервант хинозол титровали в бессывороточной среде Игла MEM и DMEM рН 7,0–7,4 с добавлением 50 мкг/мл гентамицина и вносили в лунки планшета в объеме 100 мкл. Результаты учитывали на следующий день, спустя 18 ч. Цитотоксическое действие исследуемых препаратов определяли по четырехбалльной системе путем подсчета процента (%) измененных клеток в лунках планшета. Отрицательным контролем служила бессывороточная среда, добавленная к клеткам СНО-К1 и HuTu 80.

Для каждого компонента тестирование проводили в трёх повторностях.

Статистическая обработка результатов. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010 и StatSoftStatistica Windows 10.01. Определяли значения доверительных интервалов (L) среднеарифметического (M) для уровня достоверности (P) 95%. Достоверности различий определяли по t-критерию Стьюдента. Уровень $p < 0,05$ оценивался как значимый.

Результаты и их обсуждение

Широкое распространение лекарственноустойчивых форм возбудителей, затрудняющее профилактику и лечение острых кишечных инфекций, обусловило целесообразность использования альтернативных средств, таких как бактериофаги и специфические иммуноглобулины. Ранее во ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора» в рамках НИР были проведены эксперименты с целью создания лечебно-профилактического препарата на основе холерных бактериофагов [14]. Установлено, что наиболее эффективными в профилактическом плане оказались бактериофаги Rostov-M3 и Rostov-13, которые предотвращают развитие экспериментальной холеры, вызванной вибрионами O1 серогруппы. Данные фаги являются вирулентными, их биологические и генетические свойства полностью отвечают требованиям, предъявляемым к лечебно-профилактическим биопрепаратам. У фага Rostov-13 отмечена высокая литическая активность в отношении холерных вибрионов биовара El Tor, составившая 97%, тогда как Rostov-M3 лизировал 83,3% вибрионов биовара classical [13]. Именно эти фаги были включены в новые препараты, разработка которых осуществляется на базе ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора».

В качестве специфического противохолерного компонента в состав новых препаратов также включены лошадиные иммуноглобулины, полученные путем иммунизации лабораторных животных цельноклеточным антигеном холерных вибрионов O1 серогруппы сероваров Огава и Инаба. Помимо этого, в состав препаратов были введены два разных по происхождению и свойствам энтеросорбента: полисорб-МП (кремния диоксид коллоидный), проявляющий сорбционную и детоксикационную активность, инактивируя и выводя различные соединения и, что особенно важно, патогенные бактерии и бактериальные токсины, и пектин (структурный углевод), широко используемый в пищевой промышленности и обладающий сорбционными, комплексообразующими и антимикробными свойствами.

Поскольку одним из возможных механизмов защиты от холеры, которую обеспечивают O-специфические антитела в просвете кишечника, является их агглютинирующая активность [19], первоначально была оценена агглютинирующая способность специфических иммуноглобулинов, входящих в состав 4-х вариантов комплексного препарата, в отношении холерных вибрионов O1 серогруппы разных сероваров, а также влияние на этот процесс сопутствующих компонентов. Установлено, что в препаратах, содержащих полисорб, агглютинирующая активность иммуноглобулинов снижается на несколько порядков по сравнению с контролем, причём значения показателей напрямую зависят от концентрации энтеросорбента (табл. 2). Как видно из таблицы, чем выше концентрация полисорба, тем ниже показатели агглютинации. В то же время у препаратов, в составе которых есть пектин, агглютинация холерных вибрионов специфическими иммуноглобулинами отсутствует независимо от его концентрации. Такой эффект, вероятно, обусловлен спецификой действия пектина, который относится к водорастворимым пищевым волокнам

и способен образовывать гель на поверхности слизистой желудка и кишечника и благодаря этому оказывать обволакивающее действие [3].

Как известно, *V. cholerae* — это подвижная бактерия, имеющая один полярный жгутик, покрытый липополисахаридом (ЛПС). За счет подвижности обеспечивается колонизация эпителия кишечника и инфицирование человека-хозяина холерными вибрионами [17, 22]. В литературе отмечается, что у людей, переболевших холерой, вырабатываются антитела O-специфического типа к полисахариду *V. cholerae*, которые подавляют подвижность патогена [19]. Мы предположили, что ингибирование подвижности с помощью противохолерных иммуноглобулинов, входящих в состав вариантов комплексного профилактического препарата, может быть потенциальным механизмом защиты от холеры. Результаты данных экспериментов представлены в табл. 2.

Исходная зона подвижности холерных вибрионов O1 серогруппы разных сероваров составляла 12–15 мм в диаметре, а при взаимодействии с иммуноглобулинами она уменьшалась до 2–3 мм. Совместное культивирование холерных вибрионов с препаратами, содержащими энтеросорбент + иммуноглобулин + бактериофаги, также приводило к ингибированию подвижности, и как следствие — уменьшению зоны роста вокруг места укола: при включении полисорба — до 5 мм, а в комплексе с пектином — до 8 мм. Наглядно видно, что включение специфических иммуноглобулинов в состав препаратов, содержащих энтеросорбенты и бактериофаги, приводит к снижению титра агглютинации или её отсутствию (при использовании пектина), при этом сохраняется способность ингибировать подвижность холерных вибрионов.

На следующем этапе работы проводили оценку *in vitro* безопасности комплексного препарата и входящих в его состав

Таблица 2. Агглютинирующая способность комплексных препаратов в отношении холерных вибрионов O1 серогруппы

Table 2. Agglutinating ability of combined agents against *V. cholerae* O1

Препараты	Разведение препарата, при котором регистрировалась положительная (полная и неполная) агглютинация		Зона подвижности в мм	
	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa № 6878 (№ 19242)	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Inaba № 5879	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa № 6878 (№ 19242)	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Inaba № 5879
	Иммуноглобулины противохолерные лошадиные O1	1/64	1/64	3±0,001
I (Бактериофаги, полисорб 2,5%, иммуноглобулины)	1/8	1/8	6±0,001	5±0,001
II (Бактериофаги, полисорб 5%, иммуноглобулины)	1/2	1/2	7±0,002	7±0,001
III (Бактериофаги, пектин 2,5%, иммуноглобулины)	агглютинация отсутствует	агглютинация отсутствует	8±0,001	10±0,002
IV (Бактериофаги, пектин 5%, иммуноглобулины)	агглютинация отсутствует	агглютинация отсутствует	10±0,002	10±0,001
Нормальная лошадиная сыворотка	агглютинация отсутствует	агглютинация отсутствует	15±0,001	12±0,001
Исходная подвижность штаммов			15±0,001	12±0,001

компонентов на модели культуры клеток. Использовали две клеточные линии: СНО-К1, которая является индикаторной линией для изучения цитотоксичности биологически активных веществ, в т.ч. холерного токсина, а также линию человеческого происхождения HuTu 80, поскольку предполагается использование эксперимен-

тального препарата в лечебно-профилактических целях у людей (табл. 3). Оценка морфологии культуры клеток после контакта со специфическими иммуноглобулинами в разведении от 1/2 (2,5 мг/мл Ig) до 1/64 (0,08 мг/мл Ig) показала наличие цитотоксического действия с нарушением целостности мембраны, вакуолизацией цитоплаз-

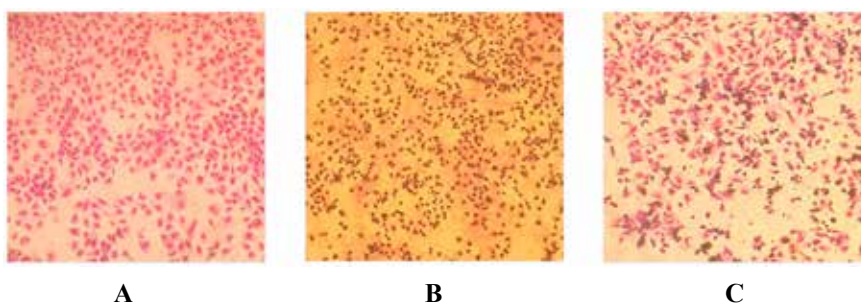


Рис. Действие специфического противохолерного иммуноглобулина и комплексного профилактического препарата на клетки HuTu-80: А — отрицательный контроль — типичная морфология клеток в ростовой среде; В — действие иммуноглобулина в разведении 1/16 (0,312 мг/мл Ig) — гибель клеток; С — комплексный препарат I (Бактериофаги, полисорб 2,5%, иммуноглобулины) в разведении 1/16 — клетки сохранили типичную морфологию, присутствуют темноокрашенные хлопья полисорба на дне лунки.

Fig. Effects of specific anti-cholera immunoglobulin and the combined prophylactic agent on HuTu-80 cells: A — negative control showing typical cell morphology in growth medium; B — effect of immunoglobulin at a 1/16 dilution (0.312 mg/mL Ig) resulting in cell death; C — combined agent I (mixture of cholera bacteriophages, 2.5% Polysorb, and immunoglobulins) at a 1/16 dilution: cells retained typical morphology, with dark-colored Polysorb flakes present at the bottom of the well.

мы, округлением и набуханием, лизисом и гибелью клеток (рис.).

Как отмечалось выше, технология получения противохолерных иммуноглобулинов предполагает использование консерванта, в частности хинозола, в конечной концентрации 0,05% в белковом препарате, поэтому его также тестировали на клеточных линиях. Результаты свидетельствуют о сохранении типичной морфологии клеток СНО-К1 при концентрации препарата от 5 до 0,02 мг, но при этом регистрировалось образование множества мелких вакуолей в цитоплазме. Клетки NuTu 80 также имели типичную морфологию и вакуолизацию цитоплазмы при добавлении 5–0,156 мг хинозола, а снижение его количества в опыте до 0,08–0,02 мг приводило к округлению клеток. Возможно, этот факт обусловлен химической природой вещества и его способностью лучше проникать в клетку при уменьшении концентрации. В результате тестирования хинозола на клеточных линиях удалось установить концентрацию, не вызывающую изменения морфологии клеток, равную 10 мг на 100 мл жидкой формы препарата, которая является безопасной для эукариот в составе лечебно-профилактического препарата.

Оценка цитотоксичности холерных бактериофагов Rostov-M3 и Rostov-13 показала отсутствие морфологических изменений клеток, что свидетельствует об их безопасности для эукариотических клеток СНО-К1 и NuTu 80.

Проверка энтеросорбентов на клеточных линиях позволяет констатировать, что пектин в количестве от 5 до 0,02 мг вызывал округление клеток СНО-К1, аналогичный эффект на клетках NuTu 80 регистрировали при концентрации от 5 до 0,0025 мг (табл. 3). Полисорб-МП не вызывал изменения морфологии клеток СНО-К1 и NuTu 80 в концентрации от 5 до 0,02 мг.

На следующем этапе работы проводили тестирование готовых комплексных препаратов (жидкая форма) на культуре клеток.

Установлено, что воздействие на клетки эукариот препаратов, включающих бактериофаги, полисорб (2,5 и 5%) и иммуноглобулины, в разведениях от 1/2 до 1/256 не сопровождалось изменением морфологии клеток и свидетельствовало об отсутствии их токсичности (наблюдали типичную морфологию клеток СНО-К1 и NuTu 80). В то же время препарат, содержащий 2,5% пектина, бактериофаги и иммуноглобулины, оказывал токсическое действие на обе клеточные линии в разведениях 1/2–1/8 и 1/2–1/64 соответственно, т.е. клетки кишечного эпителия более чувствительны к пектину (табл. 4). При повышении количества пектина до 5% токсичность препарата проявилась в большей степени, особенно на клетках NuTu 80.

Заключение

Актуальность разработки экспериментального комплексного препарата, включающего одновременно холерные фаги, иммуноглобулины и энтеросорбенты, обусловлена существующей потребностью внедрения в практику новых высокоэффективных лекарственных и профилактических средств детоксикационного и антимикробного действия, в т.ч. и для перорального применения. Анализ результатов экспериментальной работы показал, что действие иммуноглобулинов, хинозола, пектина на перевиваемые клеточные линии СНО-К1 и NuTu 80 сопровождается их округлением и гибелью, тогда как полисорб-МП и холерные бактериофаги сами по себе аналогичных изменений не вызывают. Объединение перечисленных компонентов в комплексный противохолерный лечебно-профилактический препарат и оценка его безопасности на клетках эукариот позволяют констатировать, что предпочтительнее включение в его состав полисорба.

На основании результатов экспериментальных исследований на модели культуры клеток определен оптимальный

Таблица 3. Оценка на модели культуры клеток цитотоксического действия компонентов экспериментального комбинированного противохолерного комплексного лечебно-профилактического препарата

Table 3. Cytotoxic effects of components comprising the experimental combined anti-cholera agent in a cell culture model

Клеточная линия	Разведение лошадиного противохолерного иммуноглобулина (мг/мл)							
	2,5	1,25	0,625	0,312	0,156	0,08	0,04	0,02
CHO-K1	Гибель 100% клеток	Гибель 99,5% клеток	Гибель 52,3% клеток	Нарушение целостности мембраны, округление клеток, увеличение объема клеток, вакуолизация цитоплазмы, гибель 51,2% клеток	Нарушение целостности мембраны, округление клеток, увеличение объема клеток, вакуолизация цитоплазмы, гибель 20,2% клеток	Нарушение целостности мембраны, округление клеток, увеличение объема клеток, вакуолизация цитоплазмы	Изменение морфологии клеток отсутствует	Изменение морфологии клеток отсутствует
Hu-Tu 80	Гибель 100% клеток	Гибель 100% клеток	Гибель 100% клеток	Гибель 100% клеток	Гибель 98,8% клеток	Гибель 71,6% клеток	Изменение морфологии клеток отсутствует	Изменение морфологии клеток отсутствует
Разведение пектина (мг/лунка)								
	5	2,5	1,25	0,625	0,312	0,156	0,08	0,04
CHO-K1	Округление 100% клеток	Округление 99,4% клеток	Округление 89,8% клеток	Округление 70,4% клеток	Округление 40,8% клеток	Округление 20,3% клеток	Округление 10,1% клеток	Округление 5,1% клеток
Hu-Tu 80	Округление 30,6% клеток	Округление 61,5% клеток	Округление 70,8% клеток	Округление 69,7% клеток	Округление 80,2% клеток	Округление 95,1% клеток	Округление 90,6% клеток	Округление 82,2% клеток
Разведение хинозола (мг/лунка)								
	5	2,5	1,25	0,625	0,312	0,156	0,08	0,04
CHO-K1	Морфология клеток типичная, вакуолизация цитоплазмы	-/-	Морфология клеток типичная, вакуолизация цитоплазмы, лизис 10,4% клеток	Морфология клеток типичная, вакуолизация цитоплазмы, лизис 10,1% клеток	Морфология клеток типичная, вакуолизация цитоплазмы	-/-	-/-	Изменение морфологии клеток отсутствует
Hu-Tu 80	Морфология клеток типичная, вакуолизация цитоплазмы	-/-	-/-	-/-	-/-	Округление 95,4% клеток	Округление 50,3% клеток	Округление 20,4% клеток
								Изменение морфологии клеток отсутствует
								Изменение морфологии клеток отсутствует

Примечание: в таблице представлены средние значения процента (%) измененных/погибших клеток; “-/-” — изменения, аналогичные предыдущему разведению препарата.

Note: data are presented as mean percentages (%) of altered/dead cells; “-/-” — indicates results identical to the previous dilution.

Таблица 4. Оценка безопасности противохолерного комплексного лечебно-профилактического препарата на модели культуры клеток
Table 4. Safety assessment of the experimental combined anti-cholera agent in a cell culture model

Клеточная линия		Разведение комплексного препарата							
		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
		Препарат I (полисорб 2,5% + бактериофаги (M3+R13) + Ig 5 мг/мл)							
СНО-К1	Изменение морфологии клеток отсутствует	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
НuTu 80	Изменение морфологии клеток отсутствует	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
		Препарат II (полисорб 5% + бактериофаги (M3+R13) + Ig 5 мг/мл)							
СНО-К1	Изменение морфологии клеток отсутствует	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
НuTu 80	Изменение морфологии клеток отсутствует	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
		Препарат III (пектин 2,5% + бактериофаги (M3+R13) + Ig 5 мг/мл)							
СНО-К1	Округление и гибель 90,2% клеток	Округление 52,3% клеток, гибель 10% клеток	Округление 20,4% клеток	Морфология клеток не нарушена	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
НuTu 80	Гибель 100% клеток	Гибель 100% клеток	Гибель 100% клеток	Гибель 99,5% клеток	Гибель 50,6% клеток	Гибель 10,2% клеток	Изменение морфологии клеток отсутствует	-/-	-/-
		Препарат IV (пектин 5% + бактериофаги (M3+R13) + Ig 5 мг/мл)							
СНО-К1	Округление и гибель 99,8% клеток	Округление 71,5% клеток, гибель 20,4% клеток	Округление 30,5% клеток	Округление 10,7% клеток	Изменение морфологии клеток отсутствует	-/-	-/-	-/-	-/-
НuTu 80	Гибель 100% клеток	Гибель 100% клеток	Гибель 100% клеток	Гибель 98,5% клеток	Гибель 50,6% клеток	Гибель 10,8% клеток	Изменение морфологии клеток отсутствует	-/-	-/-

состав нового экспериментального противохолерного лечебно-профилактического препарата: энтеросорбент полисорб-МП, холерные бактериофаги (МЗ+R13) и специфические иммуноглобулины — нетоксичный и безопасный для клеток макроорганизма. Дальнейшие исследования

предполагают проведение экспериментов по изучению антиадгезивных свойств лиофильно высушенного комплексного препарата в опытах *in vitro* на клеточных линиях кишечного эпителия, а также оценке его безопасности и противохолерной эффективности в опытах *in vitro* и *in vivo*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Алексанина Н.В., Моисеева О.В. Экспериментальное изучение эффективности совместного лечебного действия лактоглобулина и бактериофага сальмонеллезного. *Инфекция и иммунитет*. 2017;7(3):297–302. [Aleksanina N.V., Moiseeva O.V. Eksperimental'noe izuchenie effektivnosti sovmestnogo lechebnogo dejstviya laktoglobulina i bakteriofaga sal'monelleznogo [Experimental study of the effectiveness of the combined therapeutic action of lactoglobulin and salmonella bacteriophage]. *Infekciya i immunitet [Infection and immunity]*. 2017;7(3):297–302. (In Russian)]. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-3-297-302.
2. Асланов Б.И. Бактериофаги — эффективные антибактериальные средства в условиях глобальной устойчивости к антибиотикам. *Медицинский совет*. 2015;13:106–109. [Aslanov B.I. Bakteriofagi — effektivnye antibakterial'nye sredstva v usloviyah global'noj ustojchivosti k antibiotikam [Bacteriophages — effective antibacterial agents in the context of global antibiotic resistance]. *Medicinskij sovet [Medical Council]*. 2015;13:106–109. (In Russian)].
3. Брискин Б.С., Демидов Д.А. Эволюция энтеросорбции в лечении хирургического эндотоксикоза. *Международный медицинский журнал*. 2004;4:84–89. [Briskin B.S., Demidov D.A. Evolyuciya enterosorbicii v lechenii hirurzhicheskogo endotoksikoza [Evolution of enterosorption in the treatment of surgical endotoxemia] *Mezhdunarodnyj medicinskij zhurnal [International medical journal]*. 2004;4. (In Russian)].
4. Захаренко С.М. Бактериофаги: Современные аспекты применения, перспективы на будущее. *Медицинский совет*. 2013;10:72–74. [Zaharenko S.M. Bakteriofagi: Sovremennye aspekty primeneniya, perspektivy na budushchee [Modern aspects of application, prospects for the future] *Medicinskij sovet [Medical Council]*. 2013;10:72–74. (In Russian)].
5. Литусов Н.В. *Возбудитель холеры*. Иллюстрированное уч. пособ. Екатеринбург: Изд-во ГБОУ ВПО УГМА, 2013:52. [Litusov N.V. *Vozbuditel' holery*. Illyustrirovannoe uch. posob. [The causative agent of cholera. Illustrated textbook]. Ekaterinburg: GBOU VPO UGMA Publ., 2013:52. (In Russian)].
6. Мазанкова Л.Н., Павлова А.А. Совершенствование патогенетической терапии острых кишечных инфекций у детей. *Детские инфекции*. 2006;4:67–69. [Mazankova L.N., Pavlova A.A. Sovershenstvovanie patogeneticheskoy terapii ostryh kishchnyh infekcij u detej [Improving pathogenetic therapy of acute intestinal infections in children]. *Detские инфекции [Childhood infections]*. 2006;4:67–69. (In Russian)].
7. МУК 4.2.3745-22. *Методы лабораторной диагностики холеры. Методические указания*. М.: Центрмг, 2023:84. [MUK 4.2.3745-22. *Metody laboratornoj diagnostiki holery. Metodicheskie ukazaniya [Methods of laboratory diagnostics of cholera: Guidelines]*. Moscow: Centrmag Publ., 2023:84. (In Russian)].
8. Николаев В.Г. Энтеросорбция: состояние вопроса и перспективы на будущее. *Вестник проблем биологии и медицины*. 2007;4:71–77. [Nikolaev V.G. Enterosorbciya: sostoyanie voprosa i perspektivy na budushchee [Enterosorption: the state of the art and future prospects]. *Bulletin of Problems of Biology and Medicine*. 2007;4:71–77. (In Russian)].
9. Новокшонов А.А., Соколова Н.В., Бережкова Т.В., Сахарова А.А. Клиническая эффективность нового энтеросорбента в комплексной терапии инфекций вирусной этиологии у детей. *Лечащий врач*. 2009;7:78–80. [Novokshonov A.A., Sokolova N.V., Berezhkova T.V., Saharova A.A. Klinicheskaya effektivnost' novogo enterosorbenta v kompleksnoj terapii infekcij virusnoj etologii u detej [Clinical efficacy of a new enterosorbent in the complex therapy of viral infections in children]. *Lechashchij vrach [Doctor therapist]*. 2009;7:78–80. (In Russian)].
10. Овчинникова М.В., Исляева М.Н., Николаев В.Г., Бардахивская К.И., Никифоров А.К. Оценка функциональной активности специфического противохолерного энтеросорбента. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015;(2):83–86. [Ovchinnikova M.V., Islyayeva M.N., Nikolaev V.G., Bardahivskaya K.I., Nikiforov A.K. Ocenka funkcional'noj aktivnosti specificheskogo protivoholernogo enterosorbenta [Evaluation of the functional activity of a specific anti-cholera enterosorbent]. *Problemy osobo opasnyh infekcij [Problems of especially dangerous infections]*. 2015;(2):83–86. (In Russian)]. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-2-83-86.
11. Овчинникова М.В., Киреев М.Н., Никифоров А.К. Сорбционные свойства полимерного энтеросорбента и его специфического модификанта в модельных растворах холерного токсина *in vitro*. *Проблемы*

- особо опасных инфекций. 2014;4:71–74. [Ovchinnikova M.V., Kireev M.N., Nikiforov A.K. Sorbционnye svoystva polimernogo enterosorbenta i ego specificheskogo modifikanta v model'nykh rastvorah holernogo toksina in vitro [Sorption properties of a polymeric enterosorbent and its specific modifier in model solutions of cholera toxin in vitro]. *Problemy osobo opasnykh infekcij* [Problems of especially dangerous infections]. 2014;4:71–74. (In Russian)].
12. Пермитина М.И., Попилов А.Н., Ратникова Л.И. Эффективность энтеросорбентов при острых кишечных инфекциях. *Врач*. 2007;7:36–37. [Permitina M.I., Popilov A.N., Ratnikova L.I. Effektivnost' enterosorbentov pri ostrykh kishhechnykh infekciyah [Efficiency of enterosorbents in acute intestinal infections]. *Vrach [Doctor]*. 2007;7:36–37. (In Russian)].
 13. Погожова М.П., Гаевская Н.Е., Тюрина А.В., Анопrienko А.О. Создание коллекции фагов патогенных вибрионов и её применение в диагностических и профилактических целях. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2023;19(3):37–45. [Pogozhova M.P., Gaevskaya N.E., Tyurina A.V., Anoprienko A.O. Sozdanie kolekcii fagov patogennykh vibriонов i eyo primeneniye v diagnosticheskikh i profilakticheskikh tselyah [Creation of a collection of pathogenic vibrio phages and its use for diagnostic and prophylactic purposes]. *Vestnik biotekhnologii i fiziko-himicheskoy biologii im. Yu.A. Ovchinnikova* [Bulletin of Biotechnology and Physical-Chemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov]. 2023;19(3):37–45. (In Russian)].
 14. Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Иванова И.А., Филиппенко А.В., Омельченко Н.Д., Труфанова А.А., Погожова М.П., Анопrienko А.О., Сизова Ю.В., Пасюкова Н.И. Оценка эффективности использования холерных бактериофагов для профилактики экспериментальной холеры. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024;2:193–195. [Tyurina A.V., Gaevskaya N.E., Ivanova I.A., Filippenko A.V., Omel'chenko N.D., Trufanova A.A., Pogozhova M.P., Anoprienko A.O., Sizova Yu.V., Pasyukova N.I. Ocenka effektivnosti ispol'zovaniya holernykh bakteriofagov dlya profilaktiki eksperimental'noj holery [Evaluation of the effectiveness of using cholera bacteriophages for the prevention of experimental cholera]. *Problemy osobo opasnykh infekcij* [Problems of especially dangerous infections]. 2024;2:193–195. (In Russian)].
 15. Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Погожова М.П., Анопrienko А.О. Изучение биологических и генетических свойств холерных бактериофагов, входящих в состав экспериментального профилактического препарата. *Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены: Мат-лы XIII Всеросс. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора*. Под ред. А.Ю. Поповой. Екатеринбург: ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 2021:317–319. [Tyurina A.V., Gaevskaya N.E., Pogozhova M.P., Anoprienko A.O. Izuchenie biologicheskikh i geneticheskikh svoystv holernykh bakteriofagov, vkhodyashchih v sostav eksperimental'nogo profilakticheskogo preparata [Study of biological and genetic properties of cholera bacteriophages included in the experimental prophylactic drug]. *Sovremennye problemy epidemiologii, mikrobiologii i gigieny: Mat-ly XIII Vseross. nauch.-prakt. konf. molodykh uchennykh i specialistov Rosпотребнадзора* [Modern problems of epidemiology, microbiology and hygiene: Proceedings of the XIII All-Russian scientific and practical conference of young scientists and specialists of Rosпотребнадзора]. Ed. by A.Yu. Popova. Ekaterinburg: FBUN EMNC POZRPP Rosпотребнадзора, 2021:317–319. (In Russian)].
 16. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток. *Практ. рук-во*. Пер. с англ. с 5-го англ. изд. Ю.Н. Хомякова, Т.И. Хомяковой. Бинном. *Лаборатория знаний*. 2018:691. [Freshni R.Ya. Kul'tura zhivotnykh kletok. Prakt. ruk-vo. [Animal Cell Culture. A Practical Guide]. Transl. from Engl. from the 5th English edition by Yu.N. Khomyakov, T.I. Khomyakova. Binom. *Laboratoriya znaniy*. 2018:691. (In Russian)].
 17. Butler S.M., Camilli A. Both chemotaxis and net motility greatly influence the infectivity of *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004;101(14):5018–5023. DOI: 10.1073/pnas.0308052101.
 18. Chan B.K., Turner P.E., Kim S., Mojibian H.R., Eleftheriades J.A., Narayan D. Phage treatment of an aortic graft infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Evolution, medicine, and public health*. 2018;1:60–66. DOI: 10.1093/emph/eoy005.
 19. Charles R.C., Kelly M., Tam J.M., Akter A., Hosain M., Islam K., Biswas R., Kamruzzaman M., Chowdhury F., Khan A.I., Leung D.T., Weil A., LaRocque R.C., Bhuiyan T.R., Rahman A., Mayo-Smith L.M., Becker R.L., Vyas J.M., Faherty C.S., Nickerson K.P., Giffen S., Ritter A.S., Waldor M.K., Xu P., Kováč P., Calderwood S.B., Kauffman R.C., Wrarmert J., Qadri F., Harris J.B., Ryan E.T. Humans surviving cholera develop antibodies against *Vibrio cholerae* O-Specific polysaccharide that inhibit pathogen motility. *mBio*. 2020;11(6):e02847-20. DOI: 10.1128/mBio.02847-20.
 20. Jasion V.S., Burnett B.P. Survival and digestibility of orally-administered immunoglobulin preparations containing IgG through the gastrointestinal tract in humans. *Nutr. J*. 2015;14:22. DOI: 10.1186/s12937-015-0010-7.
 21. Lee L., Samardzic K., Wallach M., Frumkin L.R., Mochly-Rosen D. Immunoglobulin Y for potential diagnostic and therapeutic applications in infectious diseases. *Front. Immunol*. 2021;12:696003. DOI: 10.3389/fimmu.2021.696003.
 22. Liu Z., Miyashiro T., Tsou A., Hsiao A., Goulian M., Zhu J. Mucosal penetration primes *Vibrio cholerae* for host colonization by repressing quorum sensing. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2008;105(28):9769–9774. DOI: 10.1073/pnas.0802241105.
 23. Okada K., Roobhaisong A., Hamada S. Flagella-related gene mutations in *Vibrio cholerae* during extended cultivation in nutrient-limited media impair

- cell motility and prolong culturability. *mSystems*. 2023;8(5):e0010923. DOI: 10.1128/msystems.00109-23.
24. Onsea J., Soentjens P., Djebara S., Merabishvili M., Depypere M., Spriet I., Metsemakers W.J. Bacteriophage application for difficult-to-treat musculoskeletal infections: development of a standardized multidisciplinary treatment protocol. *Viruses*. 2019;11(10):891. DOI: 10.3390/v11100891.
25. Pant N., Marcotte H., Brüssow H., Svensson L., Hammarström L. Effective prophylaxis against rotavirus diarrhea using a combination of *Lactobacillus rhamnosus* GG and antibodies. *BMC Microbiol.* 2007;7:86. DOI: 10.1186/1471-2180-7-86.
26. Rahman S., Van Nguyen S., Icatlo F.C. Jr., Umeda K., Kodama Y. Oral passive IgY-based immunotherapeutics: a novel solution for prevention and treatment of alimentary tract diseases. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2013;9(5):1039–1048. DOI: 10.4161/hv.23383.
27. Reilly R.M., Domingo R. & Sandhu J. Oral Delivery of Antibodies. *Clin. Pharmacokinet.* 1997;32(4):313-323. DOI: 10.2165/00003088-199732040-00004.
28. Yen M., Cairns L.S., Camilli A. A cocktail of three virulent bacteriophages prevents *Vibrio cholerae* infection in animal models. *Nature communications*. 2017;8:14187. DOI: 10.1038/ncomms14187.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Гаевская Наталья Евгеньевна, к.м.н., ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора»;

e-mail: gaevskaya_ne@antiplague.ru

Евдокимова Вероника Вячеславовна*, к.б.н., ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора»;

e-mail: evdokimova_vv@antiplague.ru

Алексеева Людмила Павловна, д.б.н., проф., ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора»;

e-mail: alekseeva_lp@antiplague.ru

Якушева Ольга Александровна, ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора»;

e-mail: yakusheva_oa@antiplague.ru

Иванова Инна Александровна, к.б.н., ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора»;

e-mail: ivanova_ia@antiplague.ru

Тюрина Анна Владимировна, ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора»;

e-mail: turina_av@antiplague.ru

Natalia E. Gaevskaya, Cand. Sci. (Med.), Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing;

e-mail: gaevskaya_ne@antiplague.ru

Veronika V. Evdokimova*, Cand. Sci. (Biol.), Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing;

e-mail: evdokimova_vv@antiplague.ru

Ludmila P. Alekseeva, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing;

e-mail: alekseeva_lp@antiplague.ru

Olga A. Yakusheva, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing;

e-mail: yakusheva_oa@antiplague.ru

Inna A. Ivanova, Cand. Sci. (Biol.), Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing;

e-mail: ivanova_ia@antiplague.ru

Anna V. Tyurina, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing;

e-mail: turina_av@antiplague.ru

Погожова Марина Павловна, ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора»;
e-mail: pogojova_mp@antiplague.ru

Marina P. Pogozhova, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing;
e-mail: pogojova_mp@antiplague.ru

Овчинникова Мария Владимировна, к.б.н., ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора»;
e-mail: rusrapi@microbe.ru

Maria V. Ovchinnikova, Cand. Sci. (Biol.), Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing;
e-mail: rusrapi@microbe.ru

Комиссаров Александр Владимирович, д.б.н., проф., ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора»;
e-mail: komissarov-9@yandex.ru

Alexander V. Komissarov, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing;
e-mail: komissarov-9@yandex.ru

Глазкова Екатерина Алексеевна, ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора»;
e-mail: rusrapi@microbe.ru

Ekaterina A. Glazkova, Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing;
e-mail: rusrapi@microbe.ru

Гумаюнова Кристина Сергеевна, ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора»;
e-mail: rusrapi@microbe.ru

Kristina S. Gumayunova, Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing;
e-mail: rusrapi@microbe.ru

Никифоров Алексей Константинович, д.б.н., проф., ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора»;
e-mail: rusrapi@microbe.ru

Aleksey K. Nikiforov, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing;
e-mail: rusrapi@microbe.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

МЕХАНИЗМ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНОГО 5-ОКСИПИРИМИДИНА СНК-578 (2-ИЗОБУТИЛ- 4,6-ДИМЕТИЛ-5-ОКСИПИРИМИДИН ГИДРОХЛОРИДА)

Р.В. Журиков*, Л.Ф. Зайнуллина, Л.П. Коваленко, Л.Г. Колик, В.Л. Дорофеев

*ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных
и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»
125315, Российская Федерация, Москва, ул. Балтийская, 8*

Согласно данным литературы, экспрессия циклооксигеназы-2 (COX-2) в опухолевых клетках приводит к избыточной выработке простагландина-2 (PGE2), ускорению канцерогенеза и снижению выживаемости, формируя иммуносупрессивное микроокружение опухоли. Ингибиторы COX (в т.ч. аспирин и целекоксиб) могут усиливать положительную реакцию на иммунотерапию ингибиторами контрольных точек, а сигнал COX-2/PGE2 является перспективной мишенью при иммунотерапии рака. В настоящей работе проведена оценка способности производного 5-оксипиримидина СНК-578 ингибировать активность изоформ COX в бесклеточной системе. При анализе активности COX-1 и COX-2 было обнаружено, что производное 5-оксипиримидина СНК-578 является неселективным ингибитором COX-1 и COX-2. Полученные результаты позволяют предполагать, что одним из механизмов поликомпонентного противоопухолевого действия производных 5-оксипиримидина является COX-опосредованная противовоспалительная активность данных соединений.

Ключевые слова: циклооксигеназа, COX, воспаление, 5-оксипиримидины

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Журиков Р.В., Зайнуллина Л.Ф., Коваленко Л.П., Колик Л.Г., Дорофеев В.Л. Механизм противовоспалительного действия производного 5-оксипиримидина СНК-578 (2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин гидрохлорида). *Биомедицина*. 2026;22(1):99–104. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-99-104>

Принята 15.08.2025

Принята после доработки 15.12.2025

Опубликована 30.04.2026

MECHANISM BEHIND ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF 5-OXYPYRIMIDINE DERIVATIVE SNK-578 (2-ISOBUTYL- 4,6-DIMETHYL-5-OXYPYRIMIDINE HYDROCHLORIDE)

Ruslan V. Zhurikov*, Liana F. Zainullina, Larisa P. Kovalenko,
Larisa G. Kolik, Vladimir L. Dorofeev

*Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical
and Pharmaceutical Technologies
125315, Russian Federation, Moscow, Baltiyskaya Str., 8*

Literature data indicate that cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in tumor cells leads to excessive production of prostaglandin E2 (PGE2), which accelerates carcinogenesis and reduces survival rates by creating an immunosuppressive tumor microenvironment. The present study evaluated the ability of the 5-oxypyrimidine derivative SNK-578 to inhibit COX isoform activity in a cell-free system. The analysis of COX-1 and COX-2 activities revealed that SNK-578 is a non-selective inhibitor of both iso-

forms. These results suggest that COX-dependent anti-inflammatory activity is one of the mechanisms underlying the multicomponent antitumor effect of 5-oxypyrimidine derivatives.

Keywords: cyclooxygenase, COX, inflammation, 5-oxypyrimidines

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

For citation: Zhurikov R.V., Zainullina L.F., Kovalenko L.P., Kolik L.G., Dorofeev V.L. Mechanism Behind Anti-Inflammatory Effect of 5-Oxypyrimidine Derivative SNK-578 (2-Isobutyl-4,6-Dimethyl-5-Oxypyrimidine Hydrochloride). *Journal Biomed.* 2026;22(1):99–104. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-99-104>

Submitted 15.08.2025

Revised 15.12.2025

Published 30.04.2026

Введение

В отделе химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» был проведен скрининг оригинальных производных 3-оксипиридина и 5-оксипириимидина, в результате которого было отобрано малотоксичное соединение СНК-411 (2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипириимидин, патент RU2518889, 10.06.2014) с выраженным иммунофармакологическим, противоопухолевым и антиметастатическим действием. В связи с низкой растворимостью было синтезировано соединение СНК-578 (2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипириимидина гидрохлорид, патент RU2686672, 30.04.2019), для которого в скрининговых исследованиях было обнаружены выраженные противоопухолевые, противовоспалительные и противоаллергенные эффекты. На соединение СНК-578 получен евразийский патент № 041226 от 28.09.2022.

У СНК-578 на моделях острого экссудативного воспаления на карагинан и конканавалин А в опытах на крысах и мышах определили выраженные противовоспалительные свойства, сопоставимые с диклофенаком [1]. В связи с этим было высказано предположение о влиянии производных 5-оксипириимидина на циклооксигеназный путь воспаления. В настоящее время установлено, что 20–25% всех онкологических заболеваний возникает в связи с хроническими инфекциями и хроническим воспа-

лением, которое характеризуется высокой концентрацией провоспалительных и проонкогенных цитокинов в микроокружении опухоли [7, 8]. Согласно данным экспериментальных и клинических исследований, определена важная роль экспрессии COX-2 в возникновении злокачественных опухолей пищевода, толстой кишки, легких, молочной железы, кожи. Нестероидные противовоспалительные средства уменьшают воспалительный процесс у онкологических больных, который сопровождается усилением экспрессии циклооксигеназ, увеличением продукции провоспалительных цитокинов, усилением ангиогенеза и пролиферации опухолевых клеток [5, 6]. Неселективные ингибиторы циклооксигеназы и селективные ингибиторы COX-2 снижают риск рецидива и смертности от рака молочной железы, желудочно-кишечного тракта и других злокачественных новообразований [3, 4].

Цель работы — оценить способность производного 5-оксипириимидина ингибировать активность изоформ циклооксигеназы.

Материалы и методы

В работе использовали следующие реактивы: набор COX Colorimetric Inhibition Assay Kit (№ 70150), диметилсульфоксид (DMSO), SC-560 (селективный ингибитор COX-1) и DUP-697 (селективный ингибитор COX-2), тетраметилфенилендиамин (TMPD), реагент

Вурстера, арахидоновая кислота (“Cayman Chemical”, США). Детекцию результатов проводили на спектрофотометре Varioskan LUX (“Thermo Fisher Scientific”, США) при длине волны 545 нм. СНК-578 растворяли в воде, СНК-411 растворяли в воде с добавлением DMSO.

Анализ данных проводили по инструкции производителя. После нормализации значений процент ингибирования рассчитывали по формуле (100% начальная активность — ингибиторы) / 100% начальная активность. 100% начальная активность соответствовала контрольной группе для СНК-578 (дистиллированная вода). Вычисляли IC_{50} (концентрацию ингибитора, снижающую активность фермента на 50%) и рассчитывали индекс селективности.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica 13.5. Проверка на нормальность распределения проводилась с применением критерия Шапиро—Уилка. Оценку гомогенности дисперсий проводили по тесту Левена. Значимость влияния факторов при гомогенной диспер-

сии определяли с помощью дисперсионного анализа ANOVA, с последующим сравнением с контрольной группой по тесту Даннетта. Результаты считали статистически значимыми при значении $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Метод определения изоэнзим-специфического ингибирования COX-1 и COX-2 основан на реакции превращения арахидоновой кислоты в нестабильный простагландин G2 (PGG2). PGG2 реагирует с флуоресцентным субстратом (ADHP), превращая последний в резорурфин с высокой флуоресцентной активностью.

Активность фермента проверяли с помощью ингибиторов COX-1 и COX-2, поставляемых в наборе. При концентрации, равной IC_{50} , данные вещества показали ~50% ингибирования ферментов:

SC-560 (кат. № 760159 — ингибитор COX-1, $IC_{50}=5\text{нМ}$) — % ингибирования = $54,38 \pm 0,62$;

DuP-697 (кат. № 760158 — ингибитор COX-2, $IC_{50}=25\text{нМ}$) — % ингибирования = $57,38 \pm 8,23$.

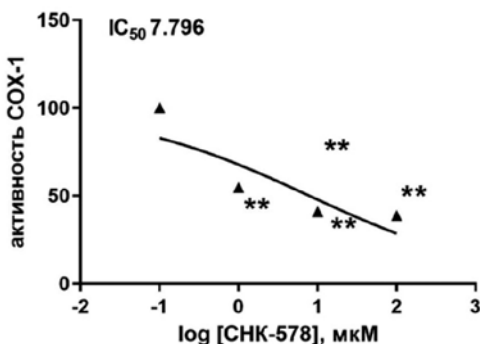


Рис. 1. Концентрационно-зависимое ингибирование активности COX-1 производным 5-оксипириимидина СНК-578.
Примечания: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, однофакторный дисперсионный анализ с последующим тестом по Даннетту. Группа контроля — 0 мкМ СНК-578 (соответствует 100% начальной активности). Каждая точка на графике представляет среднее арифметическое \pm стандартное отклонение, $n=3$.

Fig. 1. Concentration-dependent inhibition of COX-1 activity by the 5-oxypyrimidine derivative SNK-578.

Notes: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$ compared to control (one-way ANOVA followed by Dunnett's post-hoc test). Control group — 0 μM SNK-578 (represents 100% of the initial activity). Each point on the graph represents the mean \pm standard deviation, $n=3$.

СНК-578 изучали в концентрациях 1–10–100 мкМ.

Согласно полученным данным трех экспериментов, СНК-578 ингибирует 50% активности COX-1 при 27,5 и 7,796 мкМ соответственно (рис. 1).

В аналогичных экспериментальных условиях СНК-578 ингибирует 50% активности COX-2 при 6,225 мкМ (рис. 2).

При анализе селективности в отношении изоформ фермента обнаружено, что производное 5-оксипиридина СНК-578 обладает равнозначной ингибирующей активностью COX-1 и COX-2 (табл.).

Таким образом, в бесклеточной системе доказано наличие ингибирующего действия соединения в отношении активности ферментов COX-1 и COX-2, определена концентрационная зависимость действия СНК-578 на активность фермента, расчи-

тана селективность ингибирования изоформ фермента COX.

В наших предыдущих исследованиях на моделях рака шейки матки РШМ-5 и карциномы легкого Lewis СНК-578 обладал выраженными противоопухолевыми свойствами и снижал концентрации проонкогенных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, и ИЛ-17А в сыворотках крови мышей-опухоленосителей линий СВА/лас и С57BL/6 [2, 3]. Ингибирующее действие СНК-578 в отношении активности ферментов COX-1 и COX-2 объясняет выраженность его противовоспалительного действия, сопоставимого на моделях воспаления на конканавалин А и каррагинан с диклофенаком в опытах на мышах и крысах, и является еще одним свойством его поликомпонентного механизма действия.

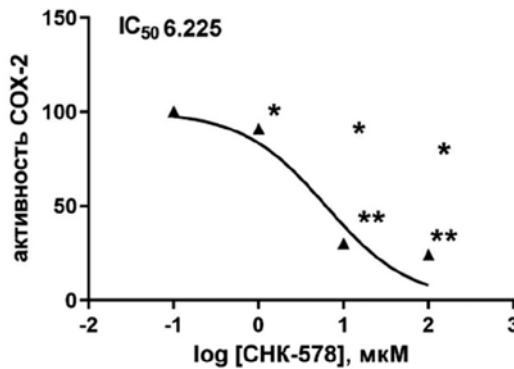


Рис. 2. Концентрационно-зависимое ингибирование активности COX-2 производным 5-оксипиридина СНК-578.

Примечания: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, однофакторный дисперсионный анализ с последующим тестом по Даннетту. Группа контроля — 0 мкМ СНК-578 (соответствует 100% начальной активности). Каждая точка на графике представляет среднее арифметическое \pm стандартное отклонение, $n = 3$.

Fig. 2. Concentration-dependent COX-2 inhibition by the 5-oxypyrimidine derivative SNK-578.

Notes: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$ compared to control (one-way ANOVA followed by Dunnett's post-hoc test). Control group — 0 μ M SNK-578 (represents 100% of the initial activity). Each point on the graph represents the mean \pm standard deviation, $n = 3$.

Таблица. Селективность ингибирования изоформ COX-2/COX-1

Table. Selectivity of COX-2/COX-1 inhibition

Соединение	IC ₅₀ COX-1, мкМ	IC ₅₀ COX-2, мкМ	COX-2/COX-1 индекс
СНК-578	7,796	6,225	0,80

Заключение

Таким образом, нами было показано, что производное 5-оксипиримидина СНК-578 ингибирует СОХ-1 и СОХ-2, являясь неселективным ингибитором циклооксигеназы. В целом полученные результаты

позволяют предполагать, что одним из механизмов поликомпонентного противоопухолевого действия производных 5-оксипиримидина, в частности СНК-578, является СОХ-опосредованная противовоспалительная активность.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Коваленко Л.П., Коржова К.В., Никитин С.В. Противоаллергенная и противовоспалительная активность производных 5-оксипиримидина (СНК-411 и СНК-578). *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2020;83(10):9–12. [Kovalenko L.P., Korzhova K.V., Nikitin S.V. Proti-voallergennaya i protivovospalitel'naya aktivnost' proizvodnykh 5-oksupirimidina (SNK-411 i SNK-578) [Antiallergic and antiinflammatory activity of 5-hydroxypyrimidine derivatives] (SNK-411 and SNK-578). *Experimental and clinical pharmacology*. 2020;83(10):9–12. (In Russian)]. DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-10-9-12.
2. Коваленко Л.П., Коржова К.В., Зайнуллина Л.Ф., Никитин С.В., Иванова Е.А., Журиков Р.В. Влияние производных 5-оксипиримидина на рост опухоли и содержание интерлейкинов в сыворотке крови самок мышей линии СВА с раком шейки матки (РШМ-5). *Биомедицинская химия*. 2021;67(2):158–161. DOI: 10.18097/pbmc20216702158. [Kovalenko L.P., Korzhova K.V., Zainullina L.F., Nikitin S.V., Ivanova E.A., Zhurikov R.V. Vliyanie proizvodnykh 5-oksupirimidina na rost opukholi i sodержание interleikinov v sыворотке крови samok myshei linii СВА s rakom sheiki matki (RSHM-5) [Effect of 5-hydroxypyrimidine derivatives on tumor growth and cytokine concentration in blood serum of female CBA mice with cervical cancer (RSHM-5)]. *Biomedical Chemistry*. 2021;67(2):158–161. (In Russian)]. DOI: 10.18097/pbmc20216702158.
3. Коваленко Л.П., Коржова К.В., Никитин С.В., Иванова Е.А., Журиков Р.В. Коррекция уровня сывороточных проонкогенных цитокинов и метастазирования производными 5-оксипиримидина и доксорубицином после удаления первичного опухолевого узла у мышей с метастазирующим раком лёгкого LLC. *Биомедицинская химия*. 2023;69(1):39–45. DOI: 10.18097/PBMC20236901039. [Kovalenko L.P., Korzhova K.V., Nikitin S.V., Ivanova E.A., Zhurikov R.V. Korrektsiya urovnya sывороточnykh proonkogennykh tsitokinov i metastazirovaniya proizvodnyimi 5-oksupirimidina i doksorubitsinom после udaleniya pervichnogo opukholevogo uzla u myshei s metastaziruyushim rakom legkogo LLC [Correction of serum prooncogenic cytokines and metastases by 5-hydroxypyrimidine derivatives and doxorubicin after removal of a primary tumor node in mice with the Lewis lung epidermoid carcinoma]. *Biomedical Chemistry*. 2023;69(1):39–45. (In Russian)]. DOI: 10.18097/PBMC20236901039.
4. Колядина И.В., Поддубная И.В., Рошин Е.М., Комов Д.В., Ожерельев А.С., Ориновский М.Б. Роль экспрессии циклооксигеназы-2 в прогнозе рака молочной железы. *Медицинский альманах*. 2010;3(12):53–55. [Kolyadina I.V., Poddubnaya I.V., Roshin E.M., Komov D.V., Ozheliev A.S., Orinovskiy M.B. Rol' ekspresii cyclooxigenazy-2 v prognoze raka molochnoy zhelezy [The role of expression of cyclooxygenase-2 in the prognosis of breast cancer]. *Medical Almanac*. 2010;3(12):53–55. (In Russian)].
5. Савельева О.Е., Перельмутер В.М., Таширева Л.А., Денисов Е.В., Исаева А.В. Воспаление как терапевтическая мишень при комплексном лечении злокачественных опухолей. *Сибирский онкологический журнал*. 2017;16(3):65–78. [Savelieva O.E., Perelmutter V.M., Tashireva L.A., Denisov E.V., Isaeva A.V. Vospalenie kak terapevticheskaya mishen pri kompleksnom lechenii zlokachestvennykh opukholei [Inflammation as a therapeutic target in the complex treatment of malignant tumors]. *Siberian J. of Oncology*. 2017;16(3):65–78. (In Russian)]. DOI: 10.21294/1814-4861-2017-16-3-65-78.
6. Сергеева Н.С., Свиридова И.К., Кувшинова Е.А. Влияние нестероидных противовоспалительных средств на канцерогенез. *Онкология. Журнал им П.А. Герцена*. 2015;4:72–73. [Sergeeva N.S., Sviridova I.K., Kuvshinova E.A. Vliyanie nesteroidnykh protivovospalitel'nykh sredstv na kancerogenez [Effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on carcinogenesis]. *P.A. Herzen Journal of Oncology*. 2015;4:72–73. (In Russian)]. DOI: 10.17116/onkolog20154472-74.
7. Galdiero M.R., Marone G., Mantovani A. Cancer inflammation and cytokines. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2018;10(8):a0228662. DOI: 10.1101/cshperspect.a0228662.
8. Tilsed C.M., Fisher S.A., Novak A.K., Lake R.A., Lesterhuis W.J. Cancer chemotherapy: insights into cellular and tumor microenvironmental mechanisms of action. *Front. Oncol.* 2022;12:960317. DOI: 10.3389/fonc.2022.960317.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Журиков Руслан Владимирович*, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;
e-mail: zhurikov_rv@academpharm.ru

Ruslan V. Zhurikov*, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies;
e-mail: zhurikov_rv@academpharm.ru

Файзуллина Лиана Фанзиевна, к.б.н., ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;
e-mail: zainullina_lf@academpharm.ru

Liana F. Zainullina, Cand. Sci. (Biol.), Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies;
e-mail: zainullina_lf@academpharm.ru

Коваленко Лариса Петровна, д.б.н., ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;
e-mail: kovalenko_lp@academpharm.ru

Larisa P. Kovalenko, Dr. Sci. (Biol.), Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies;
e-mail: kovalenko_lp@academpharm.ru

Коллик Лариса Геннадьевна, д.б.н., проф., ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;
e-mail: kolik_lg@academpharm.ru

Larisa G. Kolik, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies;
e-mail: kolik_lg@academpharm.ru

Дорофеев Владимир Львович, д.ф.н., проф., ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;
e-mail: dorofeev_vl@academpharm.ru

Dorofeev L. Vladimir, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies;
e-mail: dorofeev_vl@academpharm.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ВЛИЯНИЕ ДОКСОРУБИЦИНА НА ПРОСТРАНСТВЕННУЮ ПАМЯТЬ И МИКРОСКОПИЧЕСКУЮ КАРТИНУ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ И ГИППОКАМПА У КРЫС

И.А. Мирошкина*, И.В. Алексеев, А.В. Сорокина, С.В. Алексеева, И.Б. Цорин,
Л.Г. Колик, А.Д. Дурнев

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных
и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»
125315, Российская Федерация, Москва, ул. Балтийская, 8

На фоне очевидных успехов химиотерапевтического лечения онкологических больных отмечается значительное увеличение когнитивных нарушений в процессе фармакотерапии и на этапе восстановления. Это явление получило обозначение «химический мозг». Исследование закономерностей индукции «химического мозга» в эксперименте и его моделирование являются основой для последующей разработки фармакологических средств профилактики и коррекции. Цель работы — исследование дозовых эффектов при курсовом введении доксорубина на долговременную пространственную память и микроскопическую картину префронтальной коры и гиппокампа у крыс. Доксорубин вводили беспородным белым крысам-самцам (n=40) в дозах 2, 3 и 5 мг/кг, внутривенно, на 1, 7, 14 и 21-й день исследования. Животные контрольной группы получали изотонический раствор натрия хлорида. На 24-й и 25-й день выполняли оценку функции памяти в тесте «У-лабиринт», на 32-й день — патолого-анатомическое вскрытие для последующего морфологического исследования структур головного мозга. У крыс, получавших доксорубин, обнаружено зависимое от дозы снижение времени, проводимого в «новом» рукаве У-лабиринта, что указывает на ослабление пространственной памяти. Микроскопическое исследование показало нарушение церебральной микроциркуляции в префронтальной коре, а также зонах СА1 и СА3 гиппокампа только после использования доксорубина в максимальной дозе 5 мг/кг. Полученные результаты свидетельствуют, что при моделировании состояния «химический мозг» доксорубином предпочтительно использовать препарат в дозе 2 мг/кг, вызывающей когнитивные нарушения при минимальном токсическом эффекте. Таким образом, экспериментально обоснован выбор дозы доксорубина и теста для оценки нарушения пространственной памяти, предпочтительные при моделировании «химического мозга» в рамках проведения поиска и доклинического изучения средств фармакологической коррекции побочных эффектов химиотерапии.

Ключевые слова: доксорубин, «химический мозг», память, префронтальная кора, гиппокамп, крысы

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена в рамках реализации темы FGFG-2025-0003 при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ.

Для цитирования: Мирошкина И.А., Алексеев И.В., Сорокина А.В., Алексеева С.В., Цорин И.Б., Колик Л.Г., Дурнев А.Д. Влияние доксорубина на пространственную память и микроскопическую картину префронтальной коры и гиппокампа у крыс. *Биомедицина*. 2026;22(1):105–117. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-105-117>

Поступила 10.06.2025

Принята после доработки 24.07.2025

Опубликована 30.04.2026

EFFECT OF DOXORUBICIN ON SPATIAL MEMORY AND MICROSCOPIC MORPHOLOGY OF PREFRONTAL CORTEX AND HIPPOCAMPUS IN RATS

Irina A. Miroshkina*, Ivan V. Alekseev, Alexandra V. Sorokina, Svetlana V. Alekseeva,
Iosif B. Tsorin, Larisa G. Kolik, Andrey D. Durnev

*Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical
and Pharmaceutical Technologies
125315, Russian Federation, Moscow, Baltiyskaya Str., 8*

Despite the clear successes of chemotherapy in oncology, a significant rise is observed in cognitive impairment during pharmacotherapy and recovery — a phenomenon known as chemobrain. Experimental study of mechanisms underlying chemobrain induction and its modeling provide a critical foundation for developing pharmacological strategies for prevention and correction. The study aimed to evaluate the dose-dependent effects of doxorubicin administration on long-term spatial memory and the microscopic morphology of the prefrontal cortex and hippocampus in rats. Doxorubicin was administered intraperitoneally to outbred male white rats ($n=40$) at doses of 2, 3, and 5 mg/kg on days 1, 7, 14, and 21. Control animals received isotonic saline. Memory function was assessed using the Y-maze test on days 24 and 25, followed by a morphological examination of brain structures on day 32. Rats treated with doxorubicin exhibited a dose-dependent decrease in the time spent in the novel arm of the Y-maze, indicating impaired spatial memory. Microscopic examination revealed disrupted cerebral microcirculation in the prefrontal cortex, as well as in the hippocampal CA1 and CA3 regions (at the maximum dose of 5 mg/kg). These findings suggest that for modeling chemobrain, a doxorubicin dose of 2 mg/kg is optimal, as it induces cognitive impairment with minimal toxicity. Thus, we have experimentally justified the selection of the doxorubicin dose and the behavioral test for assessing spatial memory impairment preferred in chemobrain modeling, facilitating the search for and preclinical study of pharmacological strategies to prevent and correct chemotherapy side effects.

Keywords: doxorubicin, chemobrain, memory, prefrontal cortex, hippocampus, rats

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

Funding: the study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project FGFG-2025-000).

For citation: Miroshkina I.A., Alekseev I.V., Sorokina A.V., Alekseeva S.V., Tsorin I.B., Kolik L.G., Durnev A.D. Effect of Doxorubicin on Spatial Memory and Microscopic Morphology of Prefrontal Cortex and Hippocampus in Rats. *Journal Biomed.* 2026;22(1):105–117. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-105-117>

Submitted 10.06.2025

Revised 24.07.2025

Published 30.04.2026

Введение

Предполагаемая распространенность когнитивных нарушений у онкологических больных, получающих химиотерапию, сильно варьирует и составляет от 17 до 75% [2, 5, 10]. Вначале когнитивные нарушения, индуцированные химиотерапией («chemobrain» или «химический мозг»), объяснялись в основном психологическим

стрессом, однако к началу 2000-х гг., по мере расширения исследований и применения методов нейровизуализации, все чаще стали выявлять неврологические нарушения у пациентов во время и после химиотерапии [7, 17], что послужило доказательством связи «химического мозга» с нейротоксическими изменениями в ЦНС. В настоящее время признано, что стандартные химиотерапевти-

ческие препараты способны вызывать изменения в мозге, сохраняющиеся до двадцати лет после лечения [17, 18]. Исследования влияния противоопухолевых препаратов на ЦНС у лабораторных животных позволили выявить ряд «сдвигов» в когнитивной деятельности, наблюдаемых в клинической практике, включая нарушения памяти [15, 16, 20].

Доксорубин (ДОКС), принадлежащий к антрациклиновым антибиотикам, применяется при лечении нескольких видов злокачественных опухолей, включая рак молочной железы, рак шейки матки, рак предстательной железы. Оказывая мощное противоопухолевое действие, ДОКС при этом повреждает здоровые ткани, что приводит к кардиотоксическим, гепатотоксическим и нефротоксическим эффектам [8]. Химическая структура ДОКС восприимчива к окислительно-восстановительному процессу и способствует избыточной выработке активных форм кислорода [6]. Несмотря на то что гематоэнцефалический барьер непроницаем для ДОКС, нарушение регуляции цитокинов и нейромедиаторов приводит к прямому нейротоксическому эффекту и, как следствие, когнитивному дефициту [12].

Согласно данным экспериментальных исследований, ДОКС, который используется при моделировании «химического мозга» у крыс в широком диапазоне доз от 2 до 40 мг/кг [15, 16, 20], при системном введении и разных режимах вызывает многочисленные функциональные нарушения в различных тестах по оценке памяти и способности к обучению, значительно ослабляя гиппокамп-зависимую эпизодическую непространственную память в тесте «распознавание нового объекта» и пространственную память в водном лабиринте Морриса, снижая врожденное исследовательское поведение в тесте «Открытое поле», ухудшая показатели долговременного обучения при выработке навыка избегания [15]. В работах, описыва-

ющих ДОКС-индуцированные нейродегенеративные нарушения у грызунов, приводятся данные поведенческих, биохимических, клеточных, молекулярно-генетических исследований, а также гистологические изменения только для фиксированных доз препарата, преимущественно 2–3 мг/кг, как в условиях монотерапии, так и при комбинированном применении с другими цитостатиками [13, 14, 22], оставляя за рамками обсуждения сравнительный и зависимый от дозы аспект нейротоксического действия ДОКС. Исследование закономерностей индукции «химического мозга» в эксперименте и его моделирование являются важной основой для последующей разработки фармакологических средств профилактики и коррекции.

Цель работы — оценка действия ДОКС при курсовом введении в разных дозах на долговременную пространственную память и микроскопическую картину префронтальной коры и гиппокампа у белых беспородных крыс.

Материалы и методы

Животные. Исследование проводили на конвенциональных белых крысах-самцах из нелинейных популяций. Животные были получены из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», филиал «Столбовая» (Московская обл.). Начальная масса тела крыс составляла 200–220 г, возраст животных к началу эксперимента составлял 16–17 недель. Животные прошли карантин 7 сут в виварии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», где содержались в стандартных контролируемых условиях вивария (20–26°C, 30–70% относительная влажность, 12-часовой цикл освещения и 8–10-кратная смена объема воздуха в час) в полипропиленовых клетках Т/3 (370×200×150 мм) по 10 особей с предоставлением гранулированно-экструдированного корма «Профгрызун» (ГОСТ

34566-2019) для содержания мышей, крыс и хомяков («ИП Завертяев Д.Е.», Россия) и фильтрованной водопроводной воды *ad libitum*. Все работы с лабораторными животными были утверждены комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» на предмет соответствия этическим принципам обращения с животными, выполнялись в соответствии с Рекомендациями Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14.11.2023 № 33 и ГОСТ 33044-2014 от 01.08.2015 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Препараты. В исследовании использовали доксорубин-ЛЭНС® (ДОКС), лиофилизат для приготовления раствора 2 мг/мл (ООО «ВЕРОФАРМ», Россия). Животные контрольной группы получали изотонический р-р натрия хлорида по аналогичной схеме.

Дизайн эксперимента. Животных разделили на 4 группы: 1-я группа — контроль (n=10); 2-я группа — ДОКС в дозе 2 мг/кг (n=10); 3-я группа — ДОКС в дозе 3 мг/кг (n=10); 4-я группа — ДОКС в дозе 5 мг/кг (n=10). ДОКС или изотонический р-р натрия хлорида (в контрольной группе)

вводили крысам внутривенно (в/б) один раз в неделю на протяжении 4 недель (на 1-й, 7-й, 14-й и 21-й день исследования). Выбор курсового режима введения и доз ДОКС основан на данных литературы, описывающих моделирование ДОКС-индуцированных когнитивных нарушений у крыс [11, 15, 24]. На 24-й и 25-й дни эксперимента оценивали влияние ДОКС на рабочую память у крыс в тесте «У-лабиринт». На 32-й день эксперимента проводили эвтаназию и патологоанатомическое вскрытие крыс для последующего микроскопического исследования.

Поведенческие исследования. Для изучения пространственной рабочей памяти у крыс использовали установку «У-лабиринт» (ООО «НПК Открытая Наука», Россия). В первый день проводили обучение, помещая крыс в «У-лабиринт» с закрытым (В) «рукавом» для знакомства с пространством в течение 5 мин (рис. 1а). Через 24 ч крыс помещали в стартовый «рукав» А и позволяли свободно исследовать все три «рукава» лабиринта в течение 5 мин (рис. 1б). Регистрировали время, проведенное в «рукавах», в частности время, проведенное в новом «рукаве» В, а также число заходов в «рукава» лабиринта.

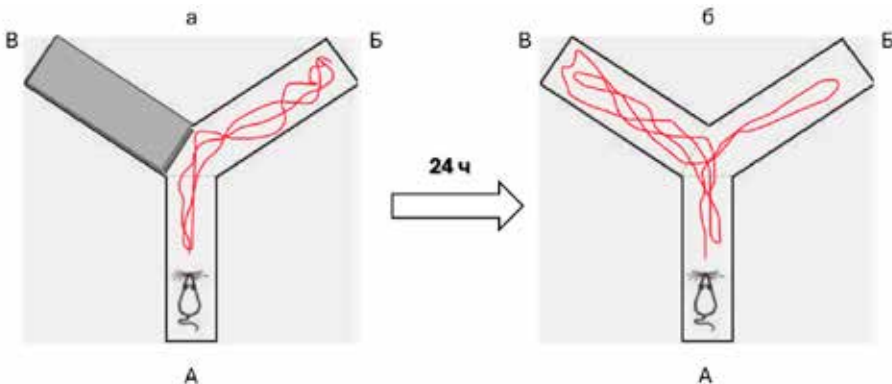


Рис. 1. Схематическое представление исследования функции долговременной памяти у крыс в тесте «У-лабиринт».

Fig. 1. Schematic representation of long-term memory assessment in rats using the Y-maze test.

Исследования микроскопической картины. На следующем этапе работы было произвольно отобрано по 5 крыс из каждой группы для последующего микроскопического исследования головного мозга. Животным проводили эвтаназию путем декапитации с помощью гильотины (ООО «НПК Открытая Наука», Россия). Участки головного мозга фиксировали в 96% этиловом спирте, затем осуществляли стандартную гистологическую проводку (автоматический тканевой процессор Leica TP 1020, «Leica Microsystems», Германия) и заливку в парафиновые блоки (Система заливки тканей Tissue-Tek® ТЕК, «Sakura», Япония). Гистологические срезы толщиной 5–6 микрон получали с помощью ротационного микротомы (Accu-Cut SRM 200, «Sakura», Япония), окрашивали галлоцианин-эозином, исследовали в проходящем свете с помощью микроскопа Nikon Eclipse 55 I (Япония) при увеличении 100, 200, 400 раз. Документировали изображения фотокамерой Nikon DS-Fi1c с применением программы визуализации изображений NIS Elements BR для Nikon.

Степень выраженности периваскулярного отека и полнокровия сосудов с эритроцитом оценивали с помощью балльного шкалирования (0 — встречается в единичных случаях, 1 — слабо выражено, 2 — умеренно выражено, 3 — средне выражено, 4 — сильно выражено). Микроскопировали по 6 случайных полей зрения в префрон-

тальной коре больших полушарий головного мозга, в зоне СА1 и в зоне СА3 гиппокампа, при увеличении $\times 200$ [1].

Для **статистической обработки** полученных результатов поведенческих исследований, а также балльного шкалирования при морфологических исследованиях использовали непараметрический аналог однофакторного дисперсионного анализа по Краскелу—Уоллису с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Данну. Результаты поведенческих исследований были представлены в виде медиан, нижних и верхних процентилей. Результаты балльного шкалирования при морфологических исследованиях были представлены в виде медиан, верхних и нижних квартилей. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты исследований

Поведенческие исследования

Результаты, полученные при исследовании влияния доксорубина на пространственную рабочую память у крыс, представлены в табл. 1. Контрольные животные через 24 ч после ознакомления с установкой Y-лабиринт значительно больше времени проводили в новом «рукаве» (В) по сравнению с экспериментальными группами. У крыс, получавших ДОКС в дозах 2 и 3 мг/кг/нед., данный показатель статистически значимо был снижен в 7,2 и 9,9 раза по сравнению с контрольной группой,

Таблица 1. Влияние ДОКС на поведение беспородных крыс в Y-лабиринте при оценке функции памяти через 24 ч после ознакомления

Table 1. Effect of doxorubicin on the behavior of outbred rats in the Y-maze during memory assessment 24 hours after familiarization

Показатель	Доксорубин, дозы			
	Контроль	2 мг/кг	3 мг/кг	5 мг/кг
Время, проведенное в знакомом (Б) «рукаве», с	39,0 15,0±53,0	29,7 12,1±33,6	21,0 11,3±5,4	171,1* 29,5±244,1
Время, проведенное в новом (В) «рукаве», с	93,2 67,8±190,1	13,0* 10,5±15,7	9,4* 5,4±12,1	0,0* 0,0±30,3

Примечание: * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем. $n = 10$.

Note: * — $p < 0,05$ compared to control. $n = 10$.

а у крыс, получавших ДОКС в наибольшей дозе 5 мг/кг, сокращение времени в новом «рукаве» составляло 100%.

При использовании ДОКС в максимальной дозе 5 мг/кг также регистрировали увеличение времени пребывания животных в знакомом «рукаве» (Б) лабиринта в 4,4 раза по сравнению с контрольной группой, что, по-видимому, связано с общим токсическим действием ДОКС, применяемым в дозе 5 мг/кг/нед. в течение 4-х недель. При оценке поведения крыс, подвергнутых действию ДОКС, не зарегистрировано статистически значимого снижения числа заходов в «рукава» лабиринта.

В целом анализ поведения животных в Y-лабиринте показал зависимое от увеличения дозы влияние ДОКС на ослабление долговременной пространственной памяти у крыс.

Исследование микроскопической картины

Префронтальная кора больших полушарий головного мозга. Микроскопическая картина префронтальной коры больших полушарий головного мозга контрольных крыс характеризуется типичной цитоархитектоникой и умеренным полнокровием сосудов. В единичных случаях у контрольных животных обнаруживаются сморщивание перикарионов нейронов, интенсивная базофилия их цитоплазмы, гиперхроматоз ядер (рис. 2),

а также периваскулярный и перицеллюлярный отек, полнокровие сосудов (рис. 3). Сходная микроскопическая картина выявлена при исследовании препаратов префронтальной коры больших полушарий крыс, получавших ДОКС в дозах 2, 3 и 5 мг/кг. Выраженность полнокровия сосудов и периваскулярного отека в группе животных, получавших доксорубин в дозах 2 и 3 мг/кг, визуально не отличается от контроля. У крыс, получавших ДОКС в дозе 5 мг/кг, полнокровие сосудов с эритростазом, а также периваскулярный отек визуально выражены сильнее, чем в контрольной группе (рис. 3). Сморщивание перикарионов нейронов, интенсивная базофилия их цитоплазмы, гиперхроматоз ядер также наблюдаются в единичных случаях (рис. 2).

Гиппокамп. При изучении микроскопической картины гиппокампа контрольных крыс отмечена типичная цитоархитектоника, умеренное полнокровие сосудов, единичные случаи периваскулярного отека. Сходная микроскопическая картина выявлена при исследовании препаратов головного мозга крыс, получавших ДОКС в дозах 2, 3 и 5 мг/кг. Наиболее выраженные морфологические изменения были выявлены в зонах СА1 и СА3 гиппокампа (рис. 4, табл. 2).

У всех животных контрольной и экспериментальных групп в зоне СА1 так же,

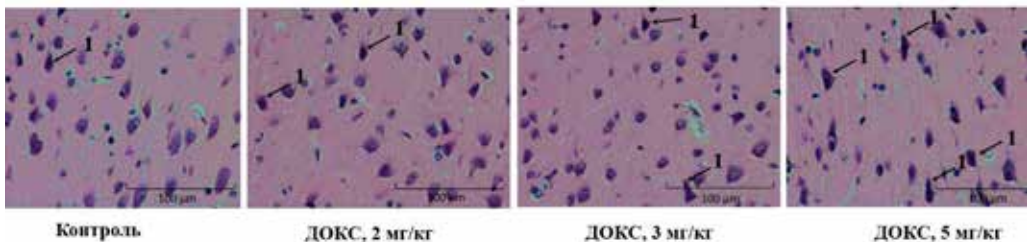


Рис. 2. Гиперхромные пирамидные нейроны в префронтальной коре крыс. Фиксация в 96% этиловом спирте. Окраска галлоцианин-эозином. Ув. $\times 400$. 1 — сморщенные перикарионы нейронов с интенсивной базофилией цитоплазмы, гиперхроматозом ядер.

Fig. 2. Hyperchromic pyramidal neurons in the rat prefrontal cortex. Fixation: 96% ethanol. Galloicyanin-eosin staining. Magnification: $400\times$. 1 — shrunken neuronal perikarya with intense cytoplasmic basophilia and nuclear hyperchromatosis.

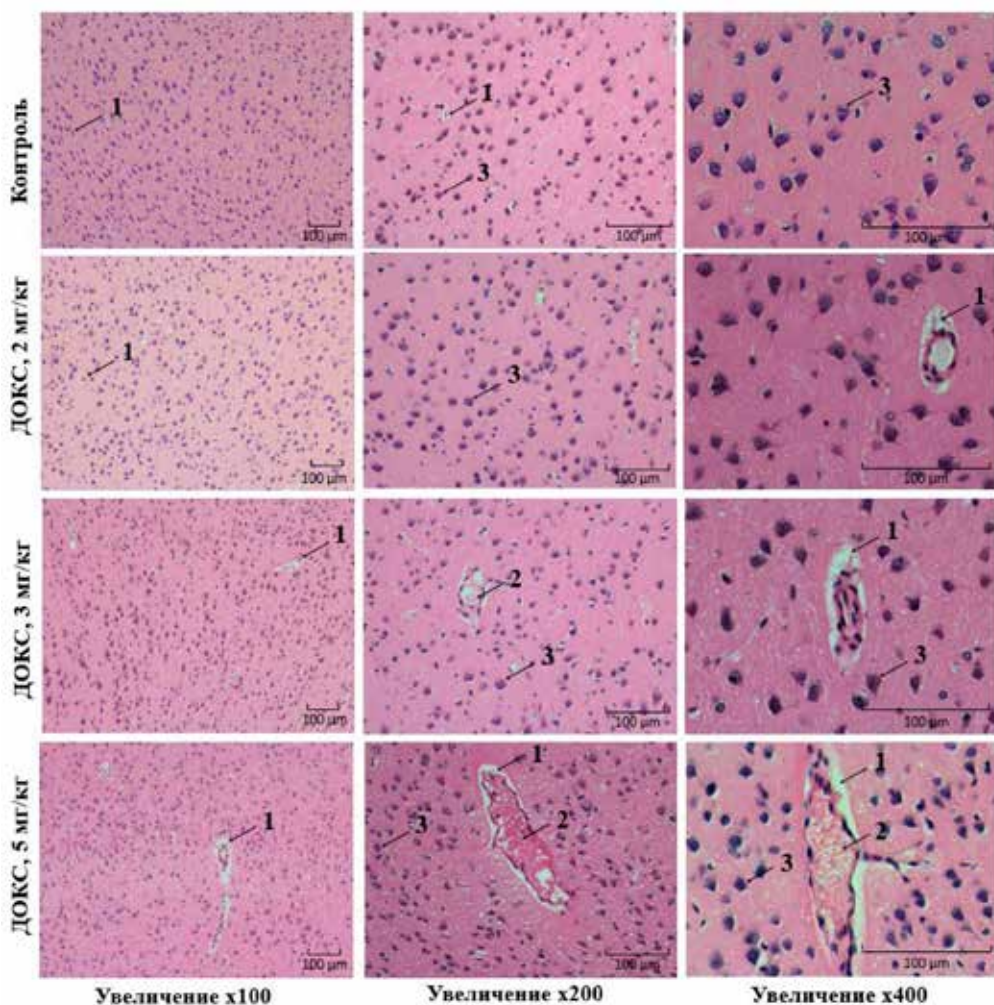


Рис. 3. Микроскопическая картина префронтальной коры крыс, получавших ДОКС в дозах 2, 3 и 5 мг/кг, в/б. Фиксация в 96% этиловом спирте. Окраска галлоцианин-эозином: 1 — периваскулярный отек; 2 — полнокровие сосудов, скопление эритроцитов; 3 — перикарионы нейронов.

Fig. 3. Microscopic morphology of the prefrontal cortex in rats treated with doxorubicin (doses of 2, 3, and 5 mg/kg, i.p). Fixation: 96% ethanol. Gallocyanin-eosin staining: 1 — perivascular edema; 2 — vascular congestion and erythrocyte accumulation; 3 — neuronal perikarya.

как и в префронтальной коре, в единичных случаях выявляются сморщенные гиперхромные перикарионы пирамидных нейронов. У крыс контрольной группы, а также у получавших ДОКС в дозах 2 и 3 мг/кг, в зоне CA1 в единичных случаях выявляются морфологические признаки нарушения

проницаемости сосудов, проявляющиеся периваскулярным и перичеллюлярным отеком, а также полнокровие сосудов с эритростазом. У крыс, получавших ДОКС в дозе 5 мг/кг, периваскулярный отек и полнокровие сосудов с эритростазом визуально выражены сильнее, чем в контрольной

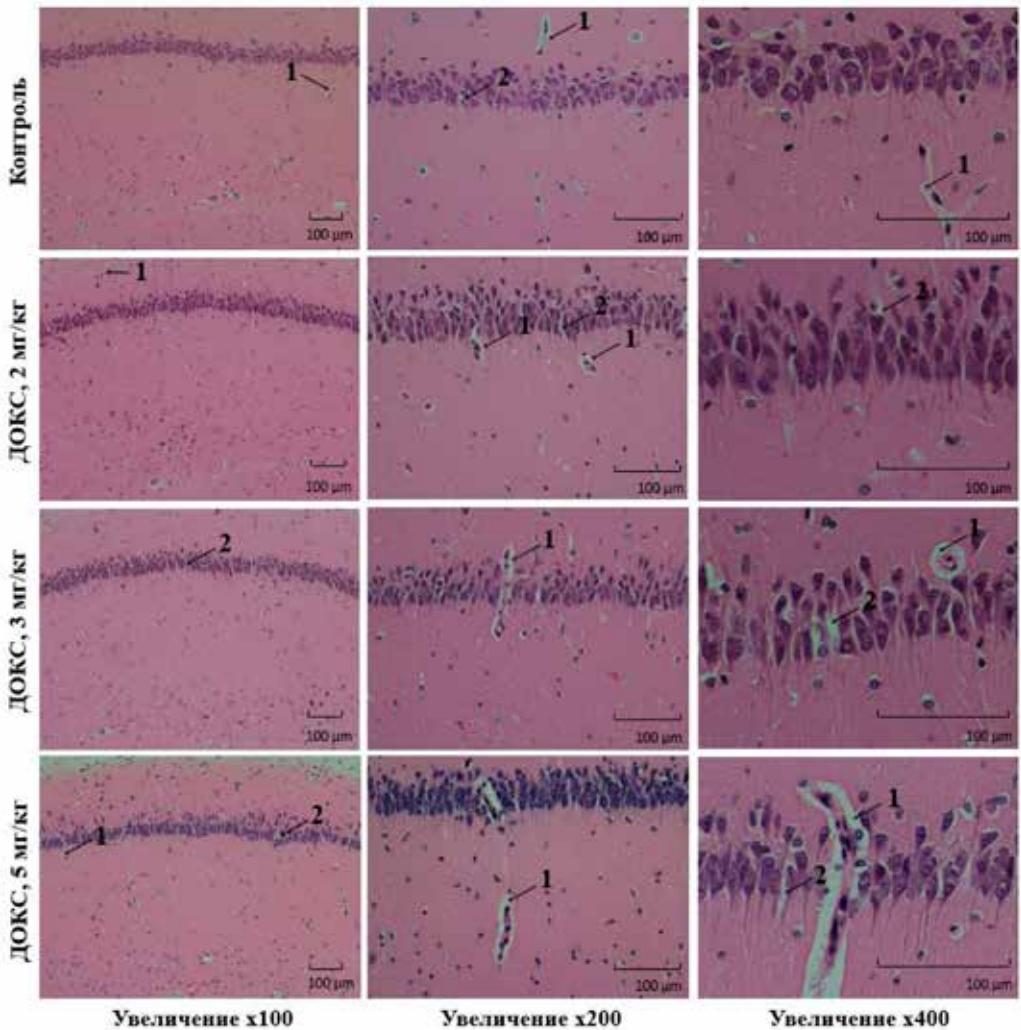


Рис. 4. Микроскопическая картина зоны CA1 гиппокампа крыс, получавших ДОКС в дозах 2, 3 и 5 мг/кг, в/б. Фиксация в 96% этиловом спирте. Окраска галлоцианин-эозином: 1 — периваскулярный отек; 2 — перичеллюлярный отек.
Fig. 4. Microscopic morphology of the hippocampal CA1 region in rats treated with doxorubicin (2, 3, and 5 mg/kg, i.p.). Fixation: 96% ethanol. Gallocyanin-eosin staining: 1 — perivascular edema; 2 — pericellular edema.

группе (рис. 4). Аналогичные результаты были получены при микроскопическом исследовании зоны СА3 гиппокампа.

В ходе проведенного балльного шкалирования препаратов префронтальной коры больших полушарий и гиппокампа показано, что выраженность периваскулярного отека и полнокровия сосудов с эритростазом была больше ($p < 0,05$), чем в контрольной

группе, только у крыс, получавших ДОКС в дозе 5 мг/кг (табл. 2). При системном курсовом введении ДОКС в дозах 2 и 3 мг/кг статистически значимых различий по данным показателям по сравнению с контрольными животными не выявлено (табл. 2).

Таким образом, при микроскопическом исследовании выявлены расстройства микроциркуляции в коре больших полушарий

Таблица 2. Влияние ДОКС на степень выраженности периваскулярного отека и полнокровия с эритростазом в гиппокампе и префронтальной коре у крыс

Table 2. Effect of doxorubicin on the severity of perivascular edema and congestion with erythrosthesis in the rat hippocampus and prefrontal cortex

Показатель	Доксорубин, дозы				Значимость по Краскелу—Уоллису
	Контроль	2 мг/кг	3 мг/кг	5 мг/кг	
Периваскулярный отек в коре больших полушарий	2,00 1,00±2,00	2,00 1,00±2,00	2,00 1,00±2,00	3,00* 2,00±3,00	H (3, N=120) = 48,35727 p<0,001
Полнокровие сосудов с эритростазом в коре больших полушарий	0,00 0,00±0,00	0,00 0,00±0,00	0,00 0,00±0,00	3,50* 3,00±4,00	H (3, N=120) = 98,35797 p<0,001
Периваскулярный отек в зоне СА1 гиппокампа	2,00 2,00±2,00	2,00 1,00±2,00	2,00 2,00±2,00	3,00* 2,00±3,00	H (3, N=120) = 42,91195 p<0,001
Полнокровие сосудов с эритростазом в зоне СА1 гиппокампа	0,00 0,00±0,00	0,00 0,00±0,00	0,00 0,00±0,00	3,00* 2,00±4,00	H (3, N=120) = 110,7225 p<0,001
Периваскулярный отек в зоне СА3 гиппокампа	2,00 1,00±2,00	2,00 1,00±2,00	2,00 2,00±2,00	3,00* 2,00±3,00	H (3, N=120) = 24,77419 p<0,001
Полнокровие сосудов с эритростазом в зоне СА3 гиппокампа	0,00 0,00±0,00	0,00 0,00±0,00	0,00 0,00±0,00	2,00* 2,00±3,00	H (3, N=120) = 84,84531 p<0,001

Примечание: * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем. $n = 5$.

Note: * — $p < 0,05$ compared to control. $n = 5$.

и гиппокампе головного мозга крыс, получавших ДОКС в дозе 5 мг/кг в течение 4-х недель в качестве монотерапии, ранее не описанные в литературе.

Обсуждение результатов

Анализ полученных данных выявил зависимость от дозы изменения в поведении беспородных белых крыс, возникающие при оценке долговременной пространственной памяти в тесте «У-лабиринт» после курсового (4-кратного) применения ДОКС в суммарных дозах 8, 12 и 20 мг/кг, в/б. Полученные данные согласуются с ранее опубликованными результатами о влиянии ДОКС в дозе 2 мг/кг/нед. в течение 4-х недель на обучение и пространственную память у крыс в водном лабиринте Морриса [19, 23].

В настоящей работе показано, что в экспериментальной группе ДОКС 3 мг/кг (суммарная доза 12 мг/кг) ослабление долговременной рабочей памяти по показателю

«время нахождения в новом рукаве» регистрируется на уровне 90%, тогда как в работе [14] в водном лабиринте Морриса при использовании аналогичной суммарной дозы ДОКС 12 мг/кг вместе с циклофосфамидом в суммарной дозе 120 мг/кг отмечалось снижение времени пребывания в заданном квадранте на 43,9% по сравнению с контрольной группой.

Тест У-лабиринт также применяется для оценки нарушения кратковременной памяти вследствие применения химиотерапевтических препаратов в модификации, предусматривающей определение спонтанного патрулирования трех «рукавов» лабиринта. Так, при моделировании ДОКС-индуцированного «химического мозга» при введении ДОКС в дозе 2 мг/кг/нед. в течение 4-х недель у крыс экспериментальной группы наблюдалось достоверное снижение уровня спонтанного чередования только на 32% по сравнению с контрольными животными [3], что уступает выраженности

падения функции долговременной памяти, фиксируемой в тесте «У-лабиринт» по выбранной нами схеме.

Функциональные расстройства в тесте «У-лабиринт», вызванные ДОКС в дозах 2 и 3 мг/кг/нед., не сопровождались статистически значимыми изменениями на микроскопическом уровне при анализе состояния префронтальной коры и гиппокампа у крыс. У животных, подвергнутых действию ДОКС в дозе 5 мг/кг/нед. (суммарная доза 20 мг/кг), были зарегистрированы расстройства микроциркуляции, сопровождающиеся периваскулярным отеком и эритростазом в префронтальной коре, а также зонах СА1 и СА3 гиппокампа. В единичных случаях у крыс контрольной и всех экспериментальных групп в указанных структурах (префронтальная кора, зоны СА1 и СА3 гиппокампа) выявлялись сморщенные гиперхромные перикарионы пирамидных нейронов. Отчасти сходная картина в префронтальной коре наблюдалась при использовании ДОКС в суммарной дозе 12 мг/кг в комбинации с циклофосфамидом, в препаратах также были обнаружены дилатация сосудов и периваскулярный отек. Такие проявления дегенерации нейронов, как сморщивание, гиперхроматоз, пикноз ядер, выявлялись в префронтальной коре, а также в зубчатой извилине гиппокампа [14].

В настоящей работе были показаны нарушения микроциркуляции, включая эритростаз со склеиванием эритроцитов в префронтальной коре и гиппокампе у крыс после действия ДОКС в суммарной дозе 20 мг/кг. Можно предположить, что данные патологические изменения связаны в т.ч. с тем, что эритроциты первыми «сталкиваются» с цитостатиками во время инфузии химиотерапевтических препаратов и, поскольку в них отсутствует ядро, действие противоопухолевых средств может быть обусловлено взаимодействием с липидной частью клеточной мембраны и цито-

скелетом. ДОКС ингибирует полимеризацию актина [9], что может играть важную роль в снижении механической прочности эритроцитов. Более того, взаимодействия антрациклинов только с клеточной мембраной без проникновения внутрь клеток достаточно для гибели опухолевых клеток [4], следовательно, мишенью действия ДОКС могут быть как липидные мембраны, так и цитоскелет эритроцитов. В 2023 г. в опытах *in vitro* доказано, что химиотерапевтические препараты, механизм действия которых связан с повреждением ДНК раковых клеток и предотвращением их деления, оказывают заметное токсическое воздействие на эритроциты [21].

Выводы

Анализ поведения крыс, подвергнутых курсовому воздействию ДОКС в течение 4-х недель, показал зависимое от дозы ослабление функции пространственной памяти в тесте «У-лабиринт» на уровне 86, 90 и 100% для доз 2, 3 и 5 мг/кг соответственно. Использование У-лабиринта позволяет сократить время определения нарушений долговременной пространственной памяти до двух дней, что является преимуществом по сравнению с водным лабиринтом Морриса, среднее время тестирования в котором составляет не менее пяти дней при более низкой выраженности эффекта.

Микроскопическое исследование отдельных структур головного мозга крыс, подвергнутых экспозиции с ДОКС, выявило нарушение церебральной микроциркуляции в префронтальной коре и зонах СА1 и СА3 гиппокампа только в максимальной дозе 5 мг/кг, обладающей общетоксическим действием.

Таким образом, выполнено экспериментальное обоснование выбора теста и минимальной дозы ДОКС (2 мг/кг), в которой препарат вызывает выраженные функциональные нарушения без очевидных органи-

ческих поражений префронтальной коры и гиппокампа, что является необходимым этапом при моделировании «химического

мозга» в рамках проведения доклинического изучения средств фармакологической коррекции побочных эффектов химиотерапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Сапожников А.Г., Доросевич А.Е. *Гистологическая и микроскопическая техника: Рук-во*. Смоленск: САУ, 2000. [Sapozhnikov A.G., Dorosevich A.E. *Gistologicheskaya i mikroskopicheskaya tekhnika: Ruk-vo* [Histological and Microscopic Techniques: A Guide]. Smolensk: SAU Publ., 2000. (In Russian)].
2. Ahles T.A., Root J.C., Ryan E.L. Cancer- and cancer treatment-associated cognitive change: an update on the state of the science. *J. Clin. Oncol.* 2012;30(30): 3675–3686. DOI: 10.1200/JCO.2012.43.0116.
3. Ali A.E., Elsherbiny D.M., Azab S.S., El-Demerdash E. The diuretic amiloride attenuates doxorubicin-induced chemobrain in rats: Behavioral and mechanistic study. *Neurotoxicology.* 2022;88:1–13. DOI: 10.1016/j.neuro.2021.10.002.
4. Alves A.C., Ribeiro D., Nunes C., Reis S. Biophysics in Cancer: The Relevance of Drug-Membrane Interaction Studies. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) — Biomembr.* 2016;1858:2231–2244. DOI: 10.1016/j.bbmem.2016.06.02
5. Amani O., Mazaheri M.A., Moghani M.M., Zarani F., Choolabi R.H. Chemotherapy-induced cognitive impairment in breast cancer survivors: A systematic review of studies from 2000 to 2021. *Cancer Rep. (Hoboken).* 2024;7(2):1989. DOI: 10.1002/cnr2.1989.
6. Asensio-López M.C., Soler F., Pascual-Figal D., Fernández-Belda F, Lax A Doxorubicin-induced oxidative stress: The protective effect of nicorandil on HL-1 cardiomyocytes. *Plos one.* 2017;12(2):e0172803. DOI: 10.1371/journal.pone.0172803.
7. Brown M.S., Stemmer S.M., Simon J.H., Stears J.C., Jones R.B., Cagnoni P.J., Sheeder J.L. White matter disease induced by high-dose chemotherapy: longitudinal study with MR imaging and proton spectroscopy. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 1998;19(2):217–221.
8. Carvalho C., Santos R.,Cardoso S., Correia S., Oliveira P., Santos M., Moreira P. Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect. *Curr. Med. Chem.* 2009;16(25):3267–3285. DOI: 10.2174/092986709788803312.
9. Colombo R., Necco A., Vailati G., Milzani A. Dose-Dependence of Doxorubicin Effect on Actin Assembly *in Vitro*. *Exp. Mol. Pathol.* 1988;49:297–304.
10. Correa D.D., Ahles T.A. Cognitive adverse effects of chemotherapy in breast cancer patients. *Curr. Opin. Support. Palliat. Care.* 2007;1:57–62. DOI: 10.1097/SPC.0b013e32813a328f.
11. Chunchai T., Pintana H., Arinno A., Ongnok B., Pantiya P., Khuanjing T., Prathumsap N., Maneechote C., Chattipakorn N., Chattipakorn S.C. Melatonin and metformin counteract cognitive dysfunction equally in male rats with doxorubicin-induced chemobrain. *Neurotoxicology.* 2023;94:158–171. DOI: 10.1016/j.neuro.2022.11.012.
12. El-Agamy S., Abdel-Aziz A., Esmat A.A., Azab S. Chemotherapy and cognition: comprehensive review on doxorubicin-induced chemobrain. *Cancer ChemotherPharmacol.* 2019;84(1):1–14. DOI: 10.1007/s00280-019-03827-0.
13. El-Shetry E.S., Ibrahim I.A., Kamel A.M., Abdelwahab O.A. Quercetin mitigates doxorubicin-induced neurodegenerative changes in the cerebral cortex and hippocampus of rats; insights to DNA damage, inflammation, synaptic plasticity. *Tissue Cell.* 2024;87:102–313. DOI: 10.1016/j.tice.2024.102313.
14. El-Din M.I.G., George M.Y., Youssef F.S. Chemical characterization of the rich polyphenolic fraction of *Thunbergia erecta* and its therapeutic potential against doxorubicin and cyclophosphamide-induced cognitive impairment in rats. *J. Ethnopharmacol.* 2023;307:116–213. DOI: 10.1016/j.jep.2023.116213.
15. John J., Kinra M., Mudgal J., Viswanatha G.L., Nandakumar K. Animal models of chemotherapy-induced cognitive decline in preclinical drug development. *Psychopharmacology (Berl).* 2021;238(11):3025–3053. DOI: 10.1007/s00213-021-05977-7.
16. Kaymak E., Akin A.T., Öztürk E., Karabulut D., Kuloğlu N., Yakan B. Thymoquinone has a neuroprotective effect against inflammation, oxidative stress, and endoplasmic reticulum stress in the brain cortex, medulla, and hippocampus due to doxorubicin. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2021;35(11):e22888. DOI: 10.1002/jbt.22888.
17. Koppelmans V., de Groo M., de Ruiter M.B., Boogerd W., Seynaeve C., Vernooij M.W., Niessen W.J., Schagen S.B., Breteler M.B. Global and focal white matter integrity in breast cancer survivors 20 years after adjuvant chemotherapy: White matter integrity after chemotherapy. *Hum. Brain Mapp.* 2014;35(3):889–899. DOI: 10.1002/hbm.22221.
18. Lange M., Joly F., Vardy J., Ahles T., Dubois M., Tron L., Winocur G., De Ruiter M.B., Castel H. Cancer-related cognitive impairment: an update on state of the art, detection, and management strategies in cancer survivors. *Ann. Oncol.* 2019;30(12):1925–1940. DOI: 10.1093/annonc/mdz410.
19. Park H.S., Kim C.J., Kwak H.B., No M.H., Heo J.W., Kim T.W. Physical exercise prevents cognitive impairment by enhancing hippocampal neuroplasticity and mitochondrial function in doxorubicin-induced chemobrain. *Neuropharmacology.* 2018;133:451–461. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2018.02.013.
20. Savran M., Asci S., Gulle K., Aslankoc R., Asci H., Karakuyu N.F., Erzurumlu Y., Kaynak M. Agomelatine

- ameliorates doxorubicin-induced cortical and hippocampal brain injury via inhibition of TNF-alpha/NF-kB pathway. *Toxicol. Mech. Methods.* 2024;34(4):359–368. DOI: 10.1080/15376516.2023.2291123.
21. Skverchinskaya E., Levdarovich N., Ivanov A., Mindukshev I., Bukatin A. Anticancer Drugs Paclitaxel, Carboplatin, Doxorubicin, and Cyclophosphamide Alter the Biophysical Characteristics of Red Blood Cells. *In Vitro. Biology.* 2023;12:230. DOI: 10.3390/biology12020230.
22. Taha M., Elazab S.T., Badawy A.M., Saati A.A., Qusty N.F., Al-Kushi A.G., Sarhan A., Osman A., Farage A.E. Activation of SIRT-1 Pathway by Nano-ceria Sheds Light on Its Ameliorative Effect on Doxorubicin-Induced Cognitive Impairment (Chemobrain): Restraining Its Neuroinflammation, Synaptic Dysplasticity and Apoptosis. *Pharmaceuticals (Basel).* 2022;15(8):918. DOI: 10.3390/ph15080918.
23. Tong Y., Wang K., Sheng S., Cui J. Polydatin ameliorates chemotherapy-induced cognitive impairment (chemobrain) by inhibiting oxidative stress, inflammatory response, and apoptosis in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2020;84(6):1201–1210. DOI: 10.1080/09168451.2020.1722057.
24. Wei T., Wang L., Tang J., Ashaolu T.J., Olatunji O.J. Protective effect of Juglanin against doxorubicin-induced cognitive impairment in rats: Effect on oxidative, inflammatory and apoptotic machineries. *Metab. Brain Dis.* 2022;37(4):1185–1195. DOI: 10.1007/s11011-022-00923-8.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мирошкина Ирина Александровна*, к.б.н., ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;
e-mail: miroshkina_ia@academpharm.ru

Irina A. Miroshkina*, Cand. Sci. (Biol.), Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies;
e-mail: miroshkina_ia@academpharm.ru

Алексеев Иван Владимирович, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;
e-mail: alekseev_iv@academpharm.ru

Ivan V. Alekseev, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies;
e-mail: alekseev_iv@academpharm.ru

Сорокина Александра Валериановна, к.б.н., ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;
e-mail: sorokina_av@academpharm.ru

Alexandra V. Sorokina, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies;
e-mail: sorokina_av@academpharm.ru

Алексеева Светлана Витальевна, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;
e-mail: alekseeva_sv@academpharm.ru

Svetlana V. Alekseeva, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies;
e-mail: alekseeva_sv@academpharm.ru

Цорин Иосиф Борисович, д.б.н., ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;
e-mail: tsorin_ib@academpharm.ru

Iosif B. Tsorin, Dr. Sci. (Biol.), Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies;
e-mail: tsorin_ib@academpharm.ru

Колик Лариса Геннадьевна, д.б.н., проф. РАН, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;
e-mail: kolik_lg@academpharm.ru

Larisa G. Kolik, Dr. Sci. (Biol.), Prof. of the Russian Academy of Sciences, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies;
e-mail: kolik_lg@academpharm.ru

Дурнев Андрей Дмитриевич, д.м.н., проф., акад. РАН, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;
e-mail: durnev_ad@academpharm.ru

Andrey D. Durnev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the Russian Academy of Sciences, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies;
e-mail: durnev_ad@academpharm.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



ВЛИЯНИЕ ПЧЕЛИНОГО ЯДА И ГИПЕРТЕРМИИ НА ПРОЦЕССЫ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ

М.А. Шабалин¹, З.В. Туктарова¹, П.А. Попова¹, О.В. Красникова^{2,*}, А.В. Дерюгина¹

¹ ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

603950, Российская Федерация, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

² ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России
603005, Российская Федерация, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Поиск малотоксичных препаратов с высокой терапевтической активностью остается актуальной проблемой при лечении злокачественных новообразований.

Цель исследования — оценка действия пчелиного яда в сочетании с гипертермией на содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность супероксиддисмутазы (СОД) в гомогенате печени крыс-опухоленосителей.

В эксперименте использовали крыс-опухоленосителей со штаммом РС-1. В работе изучали воздействие пчелиного яда на фоне гипертермии 42 и 43°C. Группами сравнения были крысы-опухоленосители и моновоздействия гипертермии 42, 43°C, пчелиного яда (в зависимости от группы). Для анализа физиологической нормы проводили исследование интактных животных. Материалом для исследования служила ткань печени, извлеченная из крыс на 1, 7, 14-е сут после терапии. Концентрацию продуктов ПОЛ оценивали по содержанию диеновых (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и оснований Шиффа (ОШ) на основе спектрофотометрического измерения. Об активности антиоксидантной системы судили по анализу активности СОД, определяемой спектрофотометрически.

В работе показано снижение содержания продуктов перекисного окисления липидов в гомогенате печени крыс-опухоленосителей в группах, подвергавшихся сочетанному воздействию гипертермии и пчелиного яда. При воздействии гипертермии 43°C и пчелиного яда на 14-е сут регистрировалось снижение ДК, ТК, ОШ относительно значений контрольной группы до значений интактных животных. При гипертермии 42°C и пчелиного яда уменьшение содержания ДК, ТК, ОШ были менее выражены. Моновоздействие гипертермии было неэффективно и сохраняло рост исследуемых показателей, выявленный в контрольной группе у крыс-опухоленосителей. Уровень СОД в гомогенате печени крыс-опухоленосителей повышался на всех сроках наблюдения, более выраженно при действии гипертермии 43°C.

Совместное использование гипертермии и пчелиного яда оказывает положительное синергичное действие.

Ключевые слова: гипертермия, пчелиный яд, печень, антиоксидантная система, супероксиддисмутаза, крысы-опухоленосители

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Шабалин М.А., Туктарова З.В., Попова П.А., Красникова О.В., Дерюгина А.В. Влияние пчелиного яда и гипертермии на процессы липопероксидации и активность супероксиддисмутазы в печени животных-опухоленосителей. *Биомедицина*. 2026;22(1):118–128.

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-118-128>

Поступила 25.11.2024

Принята после доработки 04.12.2025

Опубликована 30.04.2026

EFFECT OF BEE VENOM AND HYPERTHERMIA ON HEPATIC LIPID PEROXIDATION AND SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY IN TUMOR-BEARING ANIMALS

Mikhail A. Shabalin¹, Zulfiya V. Tuktarova¹, Pauline A. Popova¹,
Olga V. Krasnikova^{2,*}, Anna V. Deryugina¹

¹ National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod
603950, Russian Federation, Nizhny Novgorod, Gagarin Ave., 23

² Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Health Care of Russia
603005, Russian Federation, Nizhny Novgorod, Minin and Pozharsky Sq., 10/1

The search for low-toxicity drugs with high therapeutic efficacy remains a critical challenge in cancer therapy. This study aimed to evaluate the effect of bee venom combined with hyperthermia on lipid peroxidation (LPO) product levels and superoxide dismutase (SOD) activity in the liver homogenate of tumor-bearing rats. The experiment used RS-1 tumor-bearing rats. The study examined the effects of bee venom combined with hyperthermia at 42°C and 43°C. Comparison groups included untreated tumor-bearing rats and those subjected to hyperthermia (42°C or 43°C) or bee venom. Intact animals were used to establish the physiological norm. Liver tissue samples were collected on days 1, 7, and 14 post-treatment. The LPO product levels were assessed by measuring diene conjugates (DC), triene (TC) conjugates, and Schiff bases (SB) via spectrophotometry. The status of the antioxidant system was evaluated by analyzing SOD activity, also determined spectrophotometrically. The study demonstrated a reduction in LPO products in the liver homogenates of tumor-bearing rats following the combined application of hyperthermia and bee venom. By day 14, the combination of 43°C hyperthermia and bee venom resulted in a decrease in DC, TC, and SB relative to the control group, reaching the values observed in intact animals. With 42°C hyperthermia and bee venom, the reduction in these markers was less pronounced. Hyperthermia monotherapy proved ineffective, as the levels of the studied parameters continued to rise, consistent with the trends observed in the tumor-bearing control group. Hepatic SOD activity in tumor-bearing rats increased across all observation periods, with the most significant elevation occurring under 43°C hyperthermia. The combined use of hyperthermia and bee venom exerts a beneficial synergistic effect.

Keywords: hyperthermia, bee venom, liver, antioxidant system, superoxide dismutase, tumor-bearing rats

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

For citation: Shabalin M.A., Tuktarova Z.V., Popova P.A., Krasnikova O.V., Deryugina A.V. Effect of Bee Venom and Hyperthermia on Hepatic Lipid Peroxidation and Superoxide Dismutase Activity in Tumor-Bearing Animals. *Journal Biomed.* 2026;22(1):118–128. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-118-128>

Submitted 25.11.2024

Revised 04.12.2025

Published 30.04.2026

Введение

Онкологические заболевания остаются одними из наиболее неблагоприятных патологий, характеризующихся выраженными сложностями диагностики и лечения, значительным влиянием на трудоспособность и качество жизни больных, низкими показателями продолжительности жизни

пациентов [6]. Несмотря на продолжающиеся исследования в области терапии рака, всё применяемое лечение по-прежнему имеет самые низкие показатели эффективности в клинических испытаниях среди всех основных болезней [23]. Трудности лечения рака связаны с его отличительной способностью к побегу от иммунитета,

метастазированию и толерантностью к терапии [16, 32]. Вследствие генетической нестабильности раковые клетки могут выработать резистентность к проводимому лечению, и, более того, в некоторых случаях развивается множественная лекарственная устойчивость даже к лекарствам, с которыми эти клетки не встречались прежде.

При этом показано, что опухолевые клетки избирательно термочувствительны (при повышении температуры тела до 42–45°C) [8], и при тепловом воздействии опухолевая ткань перенасыщается собственными продуктами обмена, кислотами, в ней нарушаются системы регуляции, вследствие чего опухолевая клетка становится более чувствительной к лучевой или химиотерапии [24]. Гипертермия, используемая совместно с другими способами лечения, такими как химиотерапия и лучевая терапия, дает синергетический эффект: при лучевой терапии выступает как радиосенсибилизатор, при химиотерапии — химиосенсибилизатор. Она подавляет восстановление поврежденных раковых клеток после химиотерапии или лучевой терапии [21, 26, 32]. При этом по-прежнему актуальной остается проблема поиска малотоксичных препаратов с высокой терапевтической активностью. В качестве возможного варианта при комбинированной схеме воздействия с гипертермией можно рассматривать пчелиный яд, который оказывает противоопухолевое действие при лечении опухолей, в т.ч. печени, легких, почек, простаты, мочевого пузыря, раковых клеток молочной железы и лейкозных клеток [27]. Также пчелиный яд за счет содержания мелиттина обладает антиоксидантными свойствами [25], что необходимо учитывать, поскольку нарушение регуляции процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) наблюдается при злокачественном росте [28]. Активация ПОЛ нарушает проницаемость клеточной мембраны и в итоге приводит к гибели клеток [2]. Взаимодействие активных форм кислорода с полиненасыщенными

жирными кислотами липидного слоя мембран нарушает структуру и функциональное состояние клеток органов и тканей, снижая резистентность организма к опухолевому росту и оказывая неблагоприятное влияние на результаты лечения [17]. Кроме того, использование химических и физических методов противоопухолевой терапии часто способствует увеличению интенсивности свободнорадикальных реакций в организме [5]. Важное место, занимаемое печенью в обмене веществ, делает ее причастной к функциям почти всех органов и систем [4]. При этом гепатотоксичность сочетанного действия пчелиного яда и гипертермии при канцерогенезе, в основе которой лежит развитие окислительных реакций и увеличение активных форм кислорода, на сегодняшний день не изучена. В связи с этим **целью исследования** является оценка действия пчелиного яда в сочетании с гипертермией на содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность супероксиддисмутазы (СОД) в гомогенате печени крыс-опухоленосителей.

Материалы и методы

Животные. Исследование было выполнено на 135 крысах-самках популяции линий Wistar массой тела 180–200 г, по 15 особей в каждой группе. Содержание животных и проводимые с ними манипуляции осуществляли в соответствии с руководством «Guide for care and use of laboratory animals» и требованиями ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Были сформированы 9 групп крыс: 1-я — интактные; 2-я — контроль (крысы-опухоленосители); 3-я — здоровые крысы с воздействием пчелиного яда; 4-я — здоровые крысы с воздействием гипертермии 42°C; 5-я — здоровые крысы с воздействием гипертермии 43°C; 6-я — крысы-опухоленосители с воздействием гипертермии 42°C; 7-я — крысы-опухоленосители с воздействием гипертермии 43°C; 8-я — крысы-опухоленоси-

тели с сочетанным воздействием пчелиного яда и гипертермии 42°C; 9-я — крысы-опухоленосители с сочетанным воздействием пчелиного яда и гипертермии 43°C.

Дизайн исследования. В эксперименте использовали крыс-опухоленосителей. Опухолевый штамм РС-1 (30% взвеси опухолевых клеток в р-ре Хенкса) перевивали подкожно в паховую область в объеме 0,5 мл, спустя 28 сут животных вводили в эксперимент. В работе применили р-р яда пчелы медоносной (*Apis mellifera* L.) (Нижний Новгород, ННГУ), в дозе 0,5 мг/кг массы тела животного при каждом воздействии, в качестве растворителя применялся физ. р-р. Воздействие пчелиным ядом с гипертермией проводили в течение 7 сут. Пчелиный яд вводился внутривенно за 15 мин до начала гипертермии. Сеансы гипертермии проводили в климатической камере с автоматической стабилизацией температуры. Животных нагревали в течение 15 мин после достижения ректальных температур 42 и 43°C. Ректальную температуру измеряли с помощью медицинского термометра ТПЭМ-1. Материалом для исследования служила ткань печени, извлеченная из крыс на 1, 7, 14-е сут после терапии. Из тканей делали 10%-ный гомогенат и исследовали изменения активности СОД и содержания продуктов ПОЛ.

Определение концентрации продуктов ПОЛ. К 4,5 мл смеси изопропанол-гептан (1:1) добавляли 0,5 мл гомогената печени. Встряхивали 15 мин и затем центрифугировали 10 мин при 5000 об/мин. Липидный экстракт отбирали в сухую чистую пробирку, к ней добавляли 2,5 мл смеси изопропанол-гептана (3:7) и 1 мл 1 Н соляной кислоты, встряхивали и оставляли на 15 мин при 4°C. Гептан сверху отбирали в отдельную чистую сухую пробирку. К оставшейся водно-спиртовой смеси добавляли 0,5 мл NaCl, встряхивали и оставляли на 10 мин. Далее изопропанол отбирали в отдельную чистую пробирку. Контроль делали аналогичным

образом, только вместо гомогената добавляли этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА).

Получение и обработка спектров. Уровень диеновых (ДК) и триеновых (ТК) конъюгатов, оснований Шиффа (ОШ) оценивали на основе спектрофотометрического измерения [1] на спектрофотометре СФ 2000 (Россия). Оценивалась каждая фаза против соответствующего контроля при длинах волн 220 нм (поглощение изолированных двойных связей), 232 нм (поглощение диеновых конъюгатов), 278 нм (поглощение триеновых конъюгатов), 400 нм (поглощение оснований Шиффа) [13]. Содержание ДК, ТК и ОШ оценивали по относительным величинам E232/E220, E278/E220, E400/E220 и выражали в относительных единицах.

Определение активности СОД. Активность СОД определяли по ингибированию образования продукта аутоокисления адреналина, измеряя величину оптической плотности при 347 нм спектрофотометрически [9].

Статистическая обработка. Полученные данные были обработаны с помощью пакетов прикладных программ BIOSTAT и Microsoft Excel с использованием методов одномерной статистики. Статистически значимость различий средних определяли с использованием двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA с повторными измерениями (two-way repeated measures ANOVA) с апостериорным тестом Тьюки для множественного сравнения между группами. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Применение гипертермии 42°C у крыс-опухоленосителей вызывало увеличение концентрации ТК на 1–7 сут регистрации, ДК — к 1-м и 14-м сут эксперимента относительно значений интактной и контрольной групп. Сочетанное действие пчелиного яда и гипертермии 42°C определило рост



Рис. 1. Динамика содержания ДК, ТК и ОШ (отн. ед.) в тканях печени крыс сравниваемых групп ($M \pm m$) при действии гипертермии 42°C и пчелиного яда.
Fig. 1. Dynamics of Schiff base, diene conjugate, triene conjugate levels (rel. units) in rat liver tissues of the compared groups ($M \pm m$) subjected to 42°C hyperthermia and bee venom.

ТК только к 7-м сут, при сохранении содержания ДК и ТК в остальных сроках наблюдения, приближенного к значениям интактных животных, тогда как у крыс-опухоленосителей к 1-м сут регистрировался рост ДК и к 14-м сут — повышение содержания ТК относительно значений интактной группы. Действие моновоздействий пчелиного яда или гипертермии 42°C на крыс без опухоли вызывало снижение ДК на протяжении всего

исследования при росте ТК к 1-м сут с последующим их уменьшением ($p < 0,05$) (рис. 1).

При исследовании ОШ было показано, что у крыс-опухоленосителей регистрировался рост показателя в 5 раз на протяжении всего эксперимента. Гипертермия 42°C как у интактных, так и у крыс-опухоленосителей вызывала максимальный рост показателя к 1-м сут, превышающий значения интактных крыс в 6–7 раз и значения крыс-

пухолоносителей в 1,5–2 раза. При этом у интактных крыс в дальнейшем регистрировалось снижение ОШ, а у крыс-опухоленосителей их содержание сохранялось на повышенном уровне, сопоставимом с 1-ми сут исследования. Действие пчелиного яда определило рост ОШ, но менее значимый по сравнению с контролем. Сочетанное действие гипертермии 42°C и пчелиного яда на крыс-опухоленосителей определило снижение показателя по сравнению с контролем, хотя оставалось повышенным относительно значений интактной группы (рис. 1).

В дальнейшем было проведено исследование с применением гипертермии 43°C. Был выявлен рост ДК при гипертермии 43°C у интактных животных на 1-е сут и у крыс-опухоленосителей — на 7-е и 14-е сут относительно значений интактной и контрольной групп животных. Содержание ТК при действии гипертермии 43°C у крыс-опухоленосителей возросло во всех точках регистрации в 1,5–2 раза относительно значений интактной и контрольной групп животных, так же, как и при моновоздействии пчелиным ядом, которое вызывало рост ТК на 1–7-е сут. Сочетанное применение гипертермии 43°C и пчелиного яда не вызывало роста ДК и ТК относительно значений интактной группы животных ($p < 0,05$) (рис. 2).

Уровень ОШ при сочетанном действии гипертермии 43°C и пчелиного яда также сохранялся в пределах значений интактной группы, тогда как моновоздействие гипертермии 43°C на крыс-опухоленосителей вызывало значительный рост показателя на 7-е и 14-е сут. При самостоятельном действии пчелиного яда или гипертермии 43°C на крыс без опухоли происходило повышение уровня ОШ на 1–7-е сут относительно значений интактной группы крыс (рис. 2).

Следует подчеркнуть, что интенсификация цепных реакций свободнорадикального окисления в организме в норме купируется своевременным функциональным ответом

со стороны системы антиоксидантной защиты [31]. Патологические последствия для метаболического фона возникают прежде всего в случае неспособности эндогенной антиоксидантной системы обеспечить поддержание прооксидантно-антиоксидантного равновесия в границах физиологического оптимума, что в итоге приводит к катализации свободнорадикальных реакций и генерации токсичных продуктов пероксидации [7].

Анализ активности СОД показал ее увеличение при действии пчелиного яда на интактных животных. Гипертермия 42 и 43°C вызывала менее значимое увеличение данного показателя по сравнению с действием пчелиного яда. Самые выраженные изменения регистрировались при сочетанном действии пчелиного яда и гипертермии 42 или 43°C, что выражалось в росте показателя на всех этапах наблюдения относительно значений интактной и контрольной групп (табл. 1, 2).

Обсуждая полученные результаты, следует отметить, что гипертермия неэффективна в качестве монотерапии, о чем свидетельствует смещение роста окислительного потенциала у крыс в сторону образования ТК и ОШ, которые характерны для высокой агрессивности опухоли и прогрессирования заболевания [11]. По всей видимости, это связано с несколькими факторами. В частности, при повышении температуры увеличивается синтез белков теплового шока, которые играют жизненно важную роль в устойчивости раковых клеток к гипертермии. HSP27, HSP70, HSP90 постоянно сверхэкспрессируются в опухоли, HSP70 действует как эффективный ингибитор апоптоза [21, 32]. Гипертермия стимулирует агрессивное прооксидантное состояние в гепатоцитах крыс и мышей [10, 12]. Кроме того, повышение уровней продуктов ПОЛ при действии гипертермии можно объяснить индукцией гибели раковых клеток. Продукты деградации ПОЛ поступают в печень, особенно при гипертермии со значениями от 40 до 44°C [21]. При этом следует отметить, что

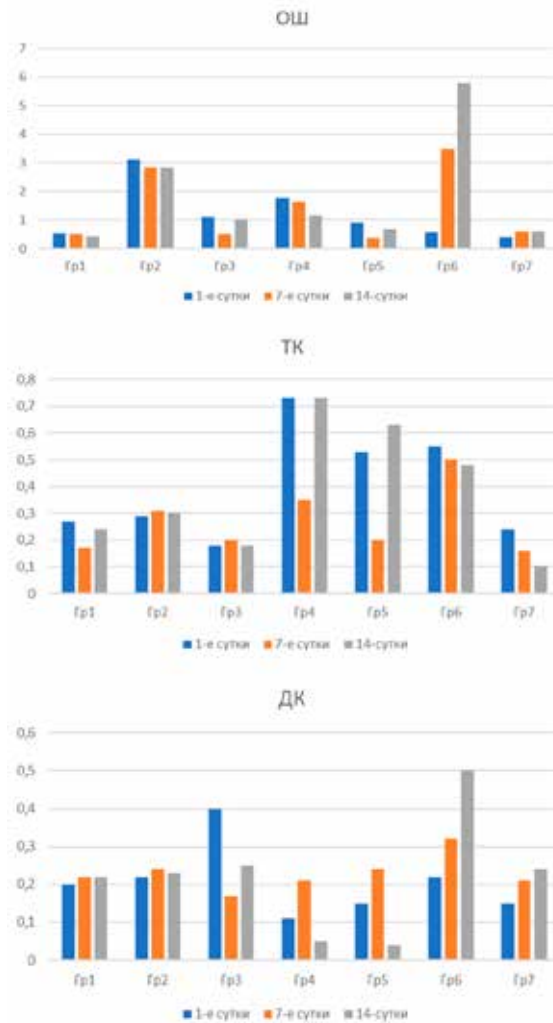


Рис. 2. Динамика содержания ДК, ТК и ОШ (отн. ед.) в тканях печени крыс сравниваемых групп ($M \pm m$) при действии гипертермии 43°C и пчелиного яда.

Fig. 2. Dynamics of Schiff base, triene conjugate, and diene conjugate levels (rel. units) in rat liver tissues of the compared groups ($M \pm m$) subjected to 43°C hyperthermia and bee venom.

воздействие гипертермии повышало ПОЛ в группе здоровых крыс, вероятно, обусловленное увеличением на фоне гипертермии концентрации лабильного железа, что приводит к окислительному повреждению печени [31].

Гипертермия и пчелиный яд вызывали снижение процессов липопероксидации и усиление активности СОД. В литературе показано, что пчелиный яд, выделенный

из протеомной ткани железы медоносной пчелы, обладает высокой антиоксидантной активностью благодаря наличию в своем составе антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы-1 (SOD1), глутатион-S-трансферазы сигма-1 изоформы А (GSTS1), пероксиредоксина 2540 (PXR2540) и пероксидазы 1 изоформа А (TPX1) [15, 25, 30]. Также апитоксин способствует СОД у жи-

Таблица 1. Изменение содержания СОД в тканях печени крыс при действии гипертермии 42°C (M±m)
Table 1. Superoxide dismutase activity in rat liver tissues under 42°C hyperthermia (M±m)

Группы	СОД		
	1-е сут	7-е сут	14-е сут
Интактные	0,10±0,05	0,08±0,05	0,06±0,05
Контроль	0,14±0,010	0,12±0,001	0,12±0,010
Действие гипертермии на крыс без опухоли	0,60±0,05*	0,53±0,03*	0,40±0,02*
Действие яда на крыс без опухоли	1,92±0,11*	1,80±0,40*	0,50±0,04*
Действие яда на опухоленосителей	2,10±0,04*#	1,80±0,04*#	1,72±0,03*#
Действие гипертермии 42°C на опухоленосителей	0,90±0,01	1,60±0,04*#	0,40±0,02*#
Действие гипертермии 42°C с ядом на опухоленосителей	1,70±0,30*	1,50±0,30*	1,66±0,03*

Примечание (здесь и далее): * — статистически значимые различия по отношению к группе «Интактные» ($p < 0,05$); # — статистически значимые различия по отношению к группе «Контроль» ($p < 0,05$).

Note (hereafter): * — significantly different from the intact group ($p < 0,05$); # — significantly different from the control group ($p < 0,05$).

Таблица 2. Изменение содержания СОД в тканях печени крыс при действии гипертермии 43°C (M±m)
Table 2. Superoxide dismutase activity in rat liver tissues under 43°C hyperthermia (M±m)

Группы	СОД		
	1-е сут	7-е сут	14-е сут
Интактные	0,10±0,05	0,07±0,05	0,08±0,05
Контроль	0,13±0,01	0,22±0,01*	0,12±0,01
Действие яда на крыс без опухоли	1,70±0,02*	0,90±0,10*	0,81±0,10*
Действие гипертермии на крыс без опухоли	1,52±0,01*	1,31±0,03*	0,94±0,03*
Действие яда на опухоленосителей	0,11±0,05*#	0,19±0,10*#	0,12±0,02*#
Действие гипертермии 43°C на опухоленосителей	0,40±0,01*#	0,40±0,01*#	0,54±0,10*#
Действие гипертермии 43°C с ядом на опухоленосителей	1,80±0,03*	1,56±0,08*	1,40±0,04*

вотных в ответ на введение яда. При введении пчелиного яда отмечается активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Восстановление цитохрома P450, происходящее при гидроксировании в процессе синтеза стероидных гормонов, в частности кортизола, сопровождается активацией кислорода. Образующийся при этом супероксид-анион-радикал индуцирует синтез фермента антиоксидантной системы защиты СОД. Однако пчелиный яд как поликомпонентное соединение, вероятно, оказывает множественные реакции при канцерогенезе. Так, фермент фосфолипаза A2, содержащийся в пчелином яде, ингибирует апоптоз гепатоцитов у мышей, подавляя сигнальный каскад трансформирующего фактора роста-бета, который ответственен за пролиферацию раковых

клеток [19]. Мелиттин как основной компонент пчелиного яда обладает различными противораковыми свойствами, включая сохранение клеточного цикла и ингибирование роста различных злокачественных клеток, и, в дополнение к этому, проявляет антибактериальную, противовоспалительную и противовирусную активность [22]. Мелиттин оказывает ингибирующее действие на высвобождение провоспалительных цитокинов, участвующих в усилении перекисного окисления [25]. Кроме мелиттина, противовоспалительными свойствами обладают апамин, адолапин, МСД-пептид [3, 29]. Пчелиный яд повышает уровень IL-10 и снижает уровень TNF-α [18]. В свою очередь, гипертермия выступает в роли химиосенсибилизатора: повышается поглощение пчелиного яда раковыми клетками

за счёт повреждения их мембраны [26, 32], при гипертермии увеличивается перфузия крови, поддерживающая высокие концентрации апитоксина [14, 20], высокая температура приводит к повышению регуляции метаболизма, увеличивается дренаж пчелиного яда в нормальных клетках [32]. Таким образом, совместное использование гипертермии и пчелиного яда оказывает положительное синергичное действие, что проявляется в снижении окислительных процессов и усилении антиоксидантной активности в печени животных-опухоленосителей. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии гепатотоксичности пчелиного яда в условиях гипертермии у крыс-опухоленосителей и позволяют рекомендовать сочетанное действие гипертермии и пчелиного яда в качестве возможной стратегии в терапии канцерогенеза.

Закключение

В ходе эксперимента выявили снижение содержания продуктов перекисного окисления липидов в гомогенате печени животных-опухоленосителей в группах, подвергавшихся сочетанному воздействию гипертермии и пчелиного яда. При воздействии гипертермии 43°C и пчелиного яда на 14-е сут регистрировалось снижение ДК, ТК, ОШ относительно значений контрольной группы до значений интактных животных. При гипертермии 42°C и пчелиного яда уменьшение ДК, ТК, ОШ было менее выражено.

Уровень супероксиддисмутазы в гомогенате печени крыс-опухоленосителей повышался при действии гипертермии с пчелиным ядом, при этом активность СОД при гипертермии 43°C с пчелиным ядом повышалась сильнее, чем при гипертермии 42°C с пчелиным ядом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови. *Вопросы медицинской химии*. 1989;35(1):127–131. [Volchegorsky I.A., Nalimov A.G., Yarovinsky B.G., Lifshits R.I. Sopotavleniye razlichnykh podkhodov k opredeleniyu produktov perekisnogo okisleniya lipidov v heptan-izopropanol'nykh ekstraktakh krovi [Comparison of different approaches to the determination of lipid peroxidation products in heptane-isopropanol blood extracts]. *Voprosy meditsinskoy khimii* [Questions of medicinal chemistry]. 1989;35(1):127–131. (In Russian)].
2. Дерюгина А.В., Шумилова А.В. Влияние цитофлавина на окислительный стресс и активность Na/K-АТФазы эритроцитов после черепно-мозговой травмы. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2017;11(117):51–55. [Deryugina A.V., Shumilova A.V. Vliyaniye tsitoflavina na oksitel'nyy stress i aktivnost' Na/K-ATFazy eritrotsitov posle cherepno-mozgovoy travmy [Effect of cytoflavin on oxidative stress and erythrocyte Na/K-ATPase activity after traumatic brain injury]. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2017;11(117):51–55. (In Russian)].
3. Красникова О.В., Сметанина О.А., Кондрашина О.В., Шабалин М.А., Дерюгина А.В., Хомутов А.Е. Влияние пчелиного яда на состояние тканей пародонта. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. 2019;42(2):235–243. [Krasnikova O.V., Smetanina O.A., Kondrashina O.V., Shabalin M.A., Deryugina A.V., Khomutov A.E. Vliyaniye pchelino yada na sostoyaniye tkaney parodonta [The influence of bee venom on the condition of periodontal tissues]. *Nauchnyye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Meditsina. Farmatsiya* [Scientific Bulletins of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy]. 2019;42(2):235–243. (In Russian)].
4. Ксейко Д.А., Генинг Т.П. Процессы перекисного окисления липидов и защитная роль антиоксидантной системы в печени и эритроцитах в условиях острой кровопотери. *Фундаментальные исследования*. 2012;(9-2):304–307. [Kseiko D.A., Gening T.P. Protsestry perekisnogo okisleniya lipidov i zashchitnaya rol' antioksidantnoy sistemy v pecheni i eritrotsitakh v usloviyakh ostroy krovopoteri [Processes of lipid peroxidation and the protective role of the antioxidant system in the liver and erythrocytes in conditions of acute blood loss]. *Fundamental'nyye issledovaniya* [Basic research]. 2012;(9-2):304–307. (In Russian)].
5. Кузьменко Д.Б., Лукьянов И.Б., Ефремов А.В., Лукьянова Е.С. Выживаемость крыс с карциносаркомой Walker-256 при воздействии общей гипертермии. *Медицина и образование в Сибири*. 2013;1:30. [Kuzmenko D.B., Lukyanov I.B., Efremov A.V., Lukyanova E.S. Vyizhivaemost' krys s karciносаркомой Walker-256 pri vozdeystvii obshchey gipertermii. *Meditsina i obrazovanie v Sibiri*. 2013;1:30. (In Russian)].

- Lukyana E.S. Vyzhivayemost' kry's s kartsinosarkomoy Walker-256 pri vozdeystvii obshchey gipertermii [Survival of rats with Walker-256 carcinosarcoma when exposed to general hyperthermia]. *Meditsina i obrazovaniye v Sibiri [Medicine and education in Siberia]*. 2013;1:30. (In Russian).
6. Москвичева Л.И., Болотина Л.В. Возможности химиотерапии у больных местнораспространенным и метастатическим аденогенным раком поджелудочной железы. *Исследования и практика в медицине*. 2020;4(7):118–134. [Moskvicheva L.I., Bolotina L.V. Vozmozhnosti khimioterapii u bol'nykh mestnorasprostrannym i metastaticheskim adenogennym rakom podzheludochnoy zhelezy [Possibilities of chemotherapy in patients with locally advanced and metastatic adenogenic pancreatic cancer]. *Issledovaniya i praktika v meditsine [Research and practice in medicine]*. 2020;4(7):118–134. (In Russian)].
 7. Овчинников А.Н., Дерюгина А.В. Ротовая жидкость как высокоинформативный субстрат неинвазивного исследования процессов липопероксидации и повреждения мышечной ткани у высококвалифицированных спортсменов в условиях физических нагрузок. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019;7(64):405–408. [Ovchinnikov A.N., Deryugina A.V. Rotovaya zhidkost' kak vysokoinformativnyu substrat neinvazivnogo issledovaniya protsessov lipoperoksidatsii i povrezhdeniya myshechnoy tkani u vysokokvalifitsirovannykh sportsmenov v usloviyakh fizicheskikh nagruzok [Oral fluid as a highly informative substrate for non-invasive research into the processes of lipid peroxidation and damage to muscle tissue in highly qualified athletes under conditions of physical activity]. *Clinical laboratory diagnostics*. 2019;7(64):405–408. (In Russian)].
 8. Попович И.Г., Анисимов В.Н. Геропротекторы и канцерогенез. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2004;1(3):61–69. [Popovich I.G., Anisimov V.N. Geroprotektory i kantserogenez [Geroprotectors and carcinogenesis]. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii [Reviews on clinical pharmacology and drug therapy]*. 2004;1(3):61–69. (In Russian)].
 9. Светицкий П.В. Использование тепла в лечении злокачественных опухолей. В кн.: *Рак*. Ростов н/Д: Эверест, 2001:160. [Svetitsky P.V. Ispol'zovaniye tepla v lechenii zlokachestvennykh opukholey [Use of heat in the treatment of malignant tumors]. V kn.: *Rak [In the book: Cancer]*. Rostov-on-Don: Everest Publ., 2001:160. (In Russian)].
 10. Araújo A.M., Enea M., Carvalho F., Bastos M.L., Carvalho M., Guedes de Pinho P. Hepatic Metabolic Derangements Triggered by Hyperthermia: An In Vitro Metabolomic Study. *Metabolites*. 2019;9(10):228.
 11. Bloomer S.A., Brown K.E., Buettner G.R., Kregel K.C. Dysregulation of hepatic iron with aging: implications for heat stress-induced oxidative liver injury. *Am. J. of Physiology*. 2008;294(4):1165–1174.
 12. Chang D., Lim M., Goos J.A., Qiao R., Ng Y., Mansfeld F.M., Jackson M., Davis T.P., Kavallaris M. Biologically Targeted Magnetic Hyperthermia: Potential and Limitations. *Front. Pharmacol.* 2018;9:20.
 13. 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. Application of molecular hydrogen in heart surgery under cardiopulmonary bypass. *Modern technologies in medicine*. 2021;13(1):71–77.
 14. Deryugina A.V., Shumilova A.V., Filippenko E.S., Galkina Y.V., Simutis I.S., Boyarinov G.A. Functional and biochemical parameters of erythrocytes during mexicor treatment in posttraumatic period after experimental blood loss and combined traumatic brain injury. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2017;1(164):26–29.
 15. Elkomy A., El-Hanoun A., Abdella M., El-Sabrou K. Improving the reproductive, immunity and health status of rabbit does using honey bee venom. *Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 2021;105(5):975–983.
 16. Ferlay J., Ervik M., Lam F., Colombet M., Mery L., Piñe-ros M., et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2020.
 17. Kangari P., Farahany Z., Golchin A., Ebadollahzadeh S., Salmaninejad A., Mahboob A., Nourazarian A. Enzymatic Antioxidant and Lipid Peroxidation Evaluation in the Newly Diagnosed Breast Cancer Patients in Iran. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2018;19(12):3511–3515.
 18. Kim J., Jang H., Leem J., Kim G. Protective Effects of Bee Venom-Derived Phospholipase A2 against Cholestatic Liver Disease in Mice. *Biomedicines*. 2021;9(8):992.
 19. Kim W., An H., Kim J., Gwon M., Gu H., Lee S., Park J., Park K., Han S., Kim M., Park K. Apamin inhibits TNF- α - and IFN- γ -induced inflammatory cytokines and chemokines via suppressions of NF- κ B signaling pathway and STAT in human keratinocytes. *Pharmacol. Rep.* 2017;69(5):1030–1035.
 20. Luzhin A., Avanesyan B., Velichko A., Shender V., Ovsyannikova N., Arapidi G., Shnaider P., Petrova N., Kireev I., Razin S., Kantidze O. Chromatin Trapping of Factors Involved in DNA Replication and Repair Underlies Heat-Induced Radio- and Chemosensitization. *Cells*. 2020;9(6):1423.
 21. Mahmoudi K., Bouras A., Bozec D., Ivkov R., Hadjipanayis C. Magnetic hyperthermia therapy for the treatment of glioblastoma: a review of the therapy's history, efficacy and application in humans. *Int. J. of Hyperthermia*. 2018;8(34):1316–1328.
 22. Mansour G.H., El-Magd M.A., Mahfouz D.H., Abdelhamid I.A., Mohamed M.F., Ibrahim N.S., Hady A., Abdel Wahab A., Elzayat E.M. Bee venom and its active component Melittin synergistically potentiate the anticancer effect of Sorafenib against HepG2 cells. *Bioorganic Chemistry*. 2021;116:1–13.

23. Martinello M., Mutinelli F. Antioxidant Activity in Bee Products: A Review. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(1):71.
24. Mimoun N., Bahu M.V., Bukhehem S., Marouf N.U., Kelef D., Kaidi R. Cancer. *J. of Siberian Medical Sciences*. 2021;(2):77–103.
25. Moise S., Byrne J., El Haj A., Telling N. The potential of magnetic hyperthermia for triggering the differentiation of cancer cells. *Royal Society of Chemistry*. 2018;10:519–525.
26. Mortezaee K., Narmani A., Salehi M., Bagheri H., Farhood B., Haghi-Aminjanh H., Najafi M. Synergic effects of nanoparticles-mediated hyperthermia in radiotherapy. *Chemotherapy of Cancer Life Sciences*. 2015;(269):119020.
27. Oršolić N. Bee venom in cancer therapy. *Cancer Metastasis Rev*. 2012;31(1-2):173–194.
28. Prasad S., Srivastava S. Oxidative stress and cancer: chemopreventive and therapeutic role of triphala. *Antioxidants*. 2020;9(1):72.
29. Salama M.A., Younis M.A., Talaat R.M. Cytokine and inflammatory mediators are associated with cytotoxic, anti-inflammatory and apoptotic activity of honeybee venom. *J. Complement Integr. Med*. 2020;18(1):75–86.
30. Somwongin S., Chantawannak P., Chaiyana W. Antioxidant activity and irritation property of venoms from Apis species. *Toxicon*. 2018;(145):32–39.
31. Waller L.P., Deshpande V., Pysropoulos N. Hepatocellular carcinoma: A comprehensive review. *World J. Hepatol*. 2015;7(26):2648–2663.
32. Yohsuke Y., Keishi T., Yasunobu K., Masakazu Y. Cancer immunity and therapy using hyperthermia with immunotherapy, radiotherapy, chemotherapy, and surgery. *J. Cancer Metastasis Treat*. 2017;3:218–230.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Шабалин Михаил Александрович, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»;
e-mail: shabalin-mihail@rambler.ru

Mikhail A. Shabalin, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod;
e-mail: shabalin-mihail@rambler.ru

Туктарова Зульфия Ваизовна, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»;
e-mail: kfg.unn@mail.ru

Zulfiya V. Tuktarova, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod;
e-mail: kfg.unn@mail.ru

Попова Полина Андреевна, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»;
e-mail: kfg.unn@mail.ru

Pauline A. Popova, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod;
e-mail: kfg.unn@mail.ru

Красникова Ольга Владимировна*, к.б.н., ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: lala-g@yandex.ru

Olga V. Krasnikova*, Cand. Sci. (Biol.), Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: lala-g@yandex.ru

Дерюгина Анна Вячеславовна, д.б.н., доц., ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»;
e-mail: derugina69@yandex.ru

Anna V. Deryugina, Dr. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod;
e-mail: derugina69@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

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Научный центр биомедицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства»
Филиал «Андреевка»**

Филиал «Андреевка» образован на базе Центрального питомника лабораторных животных АМН СССР, который, в свою очередь, был создан в 1959 году. С тех пор основной задачей филиала «Андреевка» является получение и выращивание лабораторных животных. Филиал обеспечивает своих потребителей конвенциональными животными высокого качества, контролируемые по генетическим, физиологическим, морфологическим показателям состояния здоровья. Все животные сертифицированы в соответствии с Положением о контроле качества лабораторных животных, питомников и экспериментально-биологических клиник (вивариев). С Филиалом сотрудничают более 200 потребителей лабораторных животных из России и стран СНГ. Основными потребителями являются научно-исследовательские учреждения РАН, Министерства здравоохранения РФ, Министерства обороны РФ, учебные заведения медико-биологического профиля.

Филиал «Андреевка» предлагает различных лабораторных животных. В их числе:
морские свинки;
генетически контролируемые колонии белых мышей (SHK, ICR) и крыс;
линейные мыши и крысы;
межлинейные гибриды мышей.

Адрес: 141551, Московская обл., Солнечногорский р-н, р/п. Андреевка, д. 49
телефон: +7(495)536-09-18; факс: +7(495)536-27-99
сайт: <http://www.andreevka.msk.ru/product.htm>

