

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-1-43-56>



## ВЛИЯНИЕ НЕЙРОПЕПТИДОВ — ДЕЛЬТА-СОН-ИНДУЦИРУЮЩЕГО ПЕПТИДА, КИСПЕПТИНА-10 И РТ-141 — НА ПОЛОВОЕ ПОВЕДЕНИЕ САМЦОВ КРЫС

С.Н. Субботина\*, М.А. Юдин, А.А. Парфёнова, А.А. Кряжевских, А.Б. Орлова

ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт  
военной медицины» Минобороны России,  
195043, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, 4

В работе проведена сравнительная оценка влияния нейропептидов — дельта-сон-индуцирующего пептида (ДСИП), кисспептина-10 и РТ-141 — на показатели копуляторного поведения самцов крыс с естественным уровнем половой активности. Однократное внутривбрюшинное введение ДСИП (1 мг/кг) способствует активации мотивационной и копуляторной составляющей полового поведения самцов крыс при парном взаимодействии с восприимчивой самкой. Нейропептид значительно увеличивает долю сексуально активных самцов, скорость спаривания, среднее число эякуляций, необходимое для достижения состояния «полового истощения», уменьшает длительность отдыха животных. Кисспептин-10 (1 мг/кг) способствует поддержанию высокого уровня возбуждения в середине (увеличение скорости спаривания в 6-й копулятивной серии) и конце полового цикла (увеличение доли сексуально активных самцов в 8–9-й копулятивных сериях). РТ-141 (0,13 мг/кг) оказывает стимулирующее влияние на половую активность самцов крыс только в начале и середине полового цикла. Короткий срок реализации стимулирующих эффектов ДСИП и РТ-141 обуславливает необходимость коррекции схем дозирования и кратности введения нейропептидов.

**Ключевые слова:** дельта-сон-индуцирующий пептид, кисспептин-10, бремеланотид, РТ-141, копуляторное поведение, половое истощение, пост-эякуляторный рефрактерный период

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

**Для цитирования:** Субботина С.Н., Юдин М.А., Парфёнова А.А., Кряжевских А.А., Орлова А.Б. Влияние нейропептидов — дельта-сон-индуцирующего пептида, кисспептина-10 и РТ-141 — на половое поведение самцов крыс. *Биомедицина*. 2021;17(1):43–56. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-1-43-56>

Поступила 02.06.2020

Принята после доработки 14.12.2020

Опубликована 10.03.2021

## EFFECTS OF DELTA-SLEEP-INDUCING, KISSPEPTIN-10 AND PT-141 NEUROPEPTIDES ON SEXUAL BEHAVIOUR IN MALE RATS

Svetlana N. Subbotina\*, Mikhail A. Yudin, Anastasiya A. Parfyonova,  
Aleksy A. Kryazhevskikh, Anastasiya B. Orlova

State Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of Russia  
195043, Russian Federation, Saint Petersburg, Lesoparkovaya Street, 4

The work presents a comparative assessment of the effects of delta-sleep-inducing peptide (DSIP), kisspeptin-10 and PT-141 neuropeptides on the copulatory behaviour in male rats with natural sexual activity.

A single intraperitoneal injection of DSIP (1 mg/kg) promotes the motivational and copulatory components of sexual male rat behaviour in courtship of a receptive female. The neuropeptide application significantly boosts sexual activity in males, rises the copulation rate, mean number of ejaculations towards sexual exhaustion and reduces rest periods in animals. Kisspeptin-10 (1 mg/kg) promotes high arousal in the middle (increased copulation rate in copulatory series 6) and end of the courtship cycle (increased ratio of sexually active males in copulatory series 8–9). PT-141 (0.13 mg/kg) facilitates sexual activity in male rats only in the onset and middle of the courtship cycle. The transience of DSIP and PT-141 stimulating effect warrants adjustments in the neuropeptide dosage and application regimens.

**Keywords:** delta-sleep-inducing peptide, kisspeptin-10, bremelanotide, PT-141, copulatory behaviour, sexual exhaustion, post-ejaculatory refractory period

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

For citation: Subbotina S.N., Yudin M.A., Parfyonova A.A., Kryazhevskikh A.A., Orlova A.B. Effects of Delta-sleep-inducing, Kisspeptin-10 and pt-141 Neuropeptides on Sexual Behaviour in Male Rats. *Journal Biomed.* 2021;17(1):43–56. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-1-43-56>

Submitted 02.06.2020

Revised 14.12.2020

Published 10.03.2021

## Введение

Социальная значимость проблемы сексуальных дисфункций и устойчивый рост количества различных нарушений половой активности актуализирует необходимость поиска новых средств фармакологической коррекции изменений в сексуальной сфере. Причинами подобных нарушений могут быть снижение общего тонуса организма, разнообразные психоэмоциональные и соматические расстройства [15]. Ведущая роль в патогенезе большинства заболеваний сексуальной сферы отводится нарушению функционирования нейромедиаторных и нейрогуморальных систем, которое может быть связано с изменениями процессов биосинтеза или метаболизма макромолекул и лигандов, нарушением процессов хранения, выброса или обратного захвата медиаторов, а также различными нарушениями гуморальной регуляции полового поведения. Для коррекции этих изменений могут использоваться вещества эндогенного происхождения, проявляющие как регуляторную активность в отношении ЦНС, так и обладающие широким спектром фармакологической активности — нейропептиды. Механизмы их действия включают регуляцию энергетического метаболизма,

нейротрофическое действие, модуляцию активности эндогенных факторов роста, нейропротекцию, взаимодействие с системами нейропептидов и нейромедиаторов, повышение стрессоустойчивости и работоспособности и др. [8].

В течение двух последних десятилетий накоплены данные по изучению влияния нейропептидов на половую функцию при различных патологических состояниях. На сегодняшний день установлена роль нейропептидов в регуляции функции репродуктивной системы [2, 24, 25]. Например, нейромодулятор кисспептин является мощным стимулятором секреции гонадотропин-релизинг-гормона, трансинаптическим модулятором механизмов обратной связи половых стероидов, участвует в процессах полового созревания, наступления фертильности, родов и лактации, определяет работу яичников [20, 21]. Описаны особенности секреции кисспептина при гипогонадотропном гипогонадизме, преждевременном половом развитии, гиперпролактинемической недостаточности яичников, синдроме поликистозных яичников, а также наружном генитальном эндометриозе [12]. В то же время данные о влиянии пептида на регуляцию половой

активности у лиц мужского пола практически отсутствуют. В исследовании [23] подтверждена роль кисспептина в восприятии экспериментально-индуцированных сексуальных стимулов у мужчин. Это может представлять определенные перспективы применения пептида в терапии психосексуальных расстройств.

С момента открытия регуляторного дельта-сон-индуцирующего пептида (ДСИП) накоплен значительный объем информации, доказывающий его физиологическую активность на различных моделях патологических состояний [1]. Доказаны нейропротекторные, антиоксидантные, мембраностабилизирующие свойства пептида, а также перспективность его использования для устранения стрессиндуцированных сдвигов в органах и тканях [4, 14]. Однако работ по оценке влияния ДСИП на половую функцию — весьма ограниченное количество, а содержащаяся в них информация носит противоречивый характер. В работе [2] показано негативное влияние нейропептида на способность самок неинбредных крыс к зачатию и вынашиванию потомства, темпы физического развития эмбрионов, процессы остеогенеза. В другой работе применение ДСИП способствовало устранению нарушений репродуктивной функции самок крыс, вызванных длительным приемом морфина [3]. Данных о влиянии ДСИП на половое поведение самцов крыс в зарубежной и отечественной литературе не встречается.

Стимулирующее влияние на половую функцию отмечено у синтетического пептидного аналога  $\alpha$ -меланоцитстимулирующего гормона, агониста меланокортиновых рецепторов 3-го и 4-го типа — бремеланотида (РТ-141). Анализ литературных данных показал, что в большинстве экспериментальных исследований эффективность РТ-141 оценивалась на поведенческой модели спонтанной эрекции полового члена у крыс без внешних (соци-

альных) сексуальных стимулов. Так, в течение 30 мин после введения крысам РТ-141 в дозе 50 мг/кг (интраназально) у всех животных регистрировали увеличение среднего числа спонтанных эрекции [22]. Отмечено, что курсовое введение РТ-141 крысам и приматам приводит к более быстрому и дозозависимому увеличению эректильной активности [19]. Результаты двойного слепого плацебо-контролируемого клинического исследования подтвердили терапевтическую эффективность пептида у мужчин с легкой и умеренной степенью эректильной дисфункции [18]. Эффективность пептида была показана при лечении расстройства полового возбуждения у женщин [16], однако для достижения терапевтического эффекта требовалось курсовое в течение 12-ти недель введение пептида в дозах 1,25 и 1,75 мг. Получены положительные результаты при однократном интраназальном введении бремеланотида женщинам в дозе 20 мг [17].

Таким образом, накопленный на сегодняшний день объем данных о физиологической активности нейропептидов и возможных механизмах их действия позволяет рассматривать кисспептин-10, ДСИП, РТ-141 и др. аналоги агонистов меланокортиновых рецепторов в качестве перспективных средств лечения сексуальных дисфункций. Вместе с тем влияние указанных пептидов на организм с естественным уровнем половой активности остается малоизученным, отмечается недостаток данных о влиянии нейропептидов на поведение спаривания, в т.ч. при однократном введении, сохраняются противоречивые данные в отношении влияния ДСИП на половую функцию. Эти обстоятельства определили цель настоящего исследования.

**Цель** исследования — провести сравнительную оценку влияния нейропептидов — кисспептина-10, ДСИП и РТ-141 —

на показатели копуляторного поведения самцов крыс с естественным уровнем половой активности.

## Материалы и методы

Исследовали эффекты кисспептина-10 (H-Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>), ДСИП (H-Trp-Ala-Gly-Gly-Asp-Ala-Ser-Gly-Glu-OH) и PT-141 (Ac-Nle-cyclo [Asp-His-D-Phe-Arg-Trp-Lys]-OH) при однократном внутривенном введении в дозах 1 мг/кг и 0,13 мг/кг соответственно. Водные р-ры нейропептидов вводили самцам крыс опытных групп за 30 мин до тестирования из расчета 0,1 мл на 100 г массы животного. Животные контрольной группы получали воду для инъекций в аналогичном объеме.

Субстанции нейропептидов синтезировали твердофазным методом с использованием 2-хлортритилхлоридной (ёмкостью 1,55 ммоль/г) и Ринк-амидной (ёмкостью 0,71 ммоль/г) смол по Fmoc/t-Bu стратегии. При последовательном наращивании пептидной цепи в качестве конденсирующих агентов использовали 1-гидрокси-бензотриазол (HOBt) и N,N'-диизопропилкарбодиимид (DIC), а также реактивы фирмы «Iris Biotech» чистотой не менее 98%. В результате синтеза было получено лиофилизированные водорастворимые субстанции чистотой не менее 85%. Анализ содержания и чистоты нарботанных образцов проводили с использованием жидкостного хроматографа «Agilent Technologies 1260 Infinity» с градиентным насосом «1260 Quat Pump VL», вакуумным дегазатором, автосамплером «Agilent 1260 ALS», термостатом, диодно-матричным детектором «Agilent 1260 DAD VL», масспектрометрическим детектором «Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS». Хроматографическая колонка LiChrospher WP 300 RP-18, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, с размером пор 5 мкм. Подвижная фаза: А — 0,1% трифторук-

сусной кислоты в деионизированной воде, В — 0,1% трифторуксусной кислоты, 15% деионизированной воды, 10% 2-пропанола в ацетонитриле. Режим элюирования (градиентный): 2,5% фазы В — с 0-й по 9-ю мин, 80% фазы В — с 20-й по 24-ю мин, 2,5% фазы В — с 25-й по 30-ю мин, скорость потока 0,8 мл/мин. Температура термостата колонки 40°C, объём ввода образца 20 мкл. УФ детектирование при длине волны 210 нм. Режим ионизации: электростатическое распыление при атмосферном давлении Dual ESI, Full MS (Positive). Обработку данных проводили с использованием программного обеспечения для сбора и обработки данных MassHunter Workstation.

Исследования выполнены на 48-ми белых беспородных крысах обоего пола массой 200–300 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская обл.). Эксперименты проводили в соответствии с Правилами надлежащей лабораторной практики (Приказ Минздрава России № 199н от 01.04.2016 г.). Крыс содержали в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе, со свободным доступом к воде. Все опытные и контрольные животные были взяты из одного привоза и прошли карантин в течение 14-ти сут.

Тестирование животных осуществляли в лабораторных условиях при температуре 18–24°C, относительной влажности воздуха 40–80%. Исключали воздействие постороннего шума и прочих раздражителей, не допускали присутствия в лаборатории животных других видов. С целью формирования новых циркадных ритмов в течение 2-х недель до начала тестирования животных содержали в виварии с реверсивным светом и свободным доступом к воде и пище. Цикл освещенности помещения, где размещались экспериментальные животные, включал 2 фазы: темная фаза — с 10-ти ч до 22-х ч, светлая фаза — с 22-х ч до 10-ти ч. Опыты проводили в течение темной фазы суточного цикла при тусклом красном освещении.

Подготовку самок осуществляли путем овариоэктомии [5]. Для формирования эстрального цикла через 10 дней после операции самкам вводили подкожно масляный р-р  $\beta$ -эстрадиола («Sigma Aldrich», США) в дозе 50 мкг на крысу (первый день цикла), через 48 ч — масляный р-р прогестерона («Дальхимфарм», Россия) в дозе 500 мкг на крысу (третий день цикла). Рецептивность самок подтверждали вагинальным мазком и выраженностью лордоза. Через 7 сут после начала гормональной терапии (по завершению двух эстральных циклов), когда устанавливался регулярный половой цикл, приступали к тренировкам половой активности самок, которые заключались в подсадке на период 30 мин к самке с гормонально вызванным эструсом самца с предшествующим половым опытом. По итогам трех экспозиций для дальнейшего исследования было отобрано 24 самки с выраженной рецептивностью и отсутствием антагонистического поведения по отношению к самцу. Эксперименты проводили в третий день цикла спустя 4 ч после введения прогестерона.

Подготовка самцов крыс заключалась в последовательных в течение 2-х недель тренировках с целью формирования полового опыта. Тренировка состояла в подсадке к самцу рецептивной самки на период 15 мин (3 раза в неделю). Для дальнейших исследований отбирали самцов с высоким стабильным уровнем половой активности (1–2 эякуляции за период теста). Контрольную и опытные группы формировали из животных с близкими средними значениями показателей полового поведения, каждая экспериментальная группа включала 6 самцов крыс.

Оценку влияния нейропептидов на половое поведение проводили в тесте парного взаимодействия самца с самкой до достижения самцом состояния «полового истощения». Критериями достижения состояния «полового истощения» (или критериями за-

вершения полового цикла) считали: отсутствие активности у самца в течение 30-ти мин после последней эякуляции (критерий насыщения), отсутствие копуляции в течение 60-ти мин после предъявления рецептивной самки (критерий инертности) или отсутствие эякуляции при сохранении копулятивной активности более 60-ти мин (критерий несостоятельности) [1]. Тест отражает заверченный цикл полового поведения самца, состоящий из копулятивных серий (последовательность попыток садок и садок с интромиссиями, завершающихся садкой с эякуляцией) и пост-эякуляторных рефрактерных периодов и позволяет провести оценку активирующего или угнетающего действия фармакологических средств на фоне развивающегося в процессе спаривания утомления [11].

Регистрировали следующие показатели полового поведения самцов крыс: «латентный период первой садки с интромиссией» (мин); «количество интромиссий в каждой копулятивной серии» (ед.); «количество копулятивных серий» (ед.); «количество эякуляций» (ед.); «длительность копулятивной активности» (мин); «длительность пост-эякуляторных рефрактерных периодов» (мин). Рассчитывали показатели: «общее количество интромиссий» (ед.); «частота интромиссий» (скорость копуляции) (ед./мин); «общая длительность копулятивных серий» (мин).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0 и Excel 2010. Результаты представляли в виде медианы и процентилей [25;75]. В ходе проведения анализа использовали непараметрические методы статистики: для сравнения количественных показателей — критерий Краскела—Уоллиса, для качественных показателей — критерий  $\chi^2$ . Критическое значение уровня статистической значимости принимали равным 0,05. Долю животных представляли в виде количества животных с призна-

**Таблица 1.** Влияние нейропептидов на показатели копуляторного поведения самцов крыс  
**Table 1.** Neuropeptide impact on copulatory behaviour in male rats

| Показатель                                        | Группы/нейропептид |                    |                  |                   |
|---------------------------------------------------|--------------------|--------------------|------------------|-------------------|
|                                                   | Контроль           | Кисспептин-10      | ДСИП             | РТ-141            |
| Латентный период первой садки с интромиссией, мин | 0,1 [0,1;0,1]      | 0,0 [0,0;0,1]      | 0,1 [0,0;0,2]    | 0,1 [0,0;0,1]     |
| Общее количество интромиссий, ед.                 | 60,0 [44,0;100,0]  | 103,0 [65,0;137,0] | 82,0 [72,0;88,0] | 78,0 [46,0;218,0] |
| Общая длительность копулятивных серий, мин        | 86,2 [34,5;105,6]  | 62,6 [29,0;114,3]  | 39,9 [26,8;44,0] | 78,2 [29,9;100,6] |
| Скорость копуляции, интр./мин                     | 1,2 [0,6;1,3]      | 1,9 [1,1;2,7]      | 2,2 [1,8;2,5]*   | 2,3 [1,0;2,7]     |
| Количество копулятивных серий, ед.                | 7,0 [5,0;7,0]      | 9,0 [7,0;10,0]     | 10,0 [8,0;12,0]* | 8,0 [6,0;8,0]     |
| Количество эякуляций, ед.                         | 7,0 [4,0;7,0]      | 8,0 [6,0;10,0]     | 10,0 [8,0;12,0]* | 7,0 [6,0;8,0]     |

**Примечание:** \* — отличия от контрольных значений статистически значимы при  $p < 0,05$ .

**Note:** \* — statistical significance vs. control values,  $p < 0.05$ .

ком по отношению к общему количеству животных в группе.

### Результаты исследований

В начале полового цикла поведение спаривания самцов крыс контрольной и опытных групп характеризовалось высоким естественным уровнем копулятивной активности. Об этом свидетельствовали высокая скорость инициации спаривания (латентный период первой садки с интромиссией во всех экспериментальных группах не превышал 0,1 мин) и отсутствие садок без интромиссий (табл. 1).

Введение нейропептидов сопровождалось статистически значимым усилением копулятивной активности самцов только в случае применения ДСИП. Несмотря на повышение общей скорости копуляции во всех опытных группах в 1,6–1,8 раза по сравнению с контролем, достоверный эффект был получен только при введении ДСИП. Так, в соответствии с данными табл. 1, ДСИП был эффективен по трем параметрам из шести: скорость копуляции, количество проведенных копулятивных серий и количество совершенных эякуляций значительно превышали аналогичные показатели контрольной группы (при  $p < 0,05$ ). Остальные нейропептиды, несмотря на отличие значений указанных показателей

по сравнению с контролем, были неэффективны.

Уровень генитальной стимуляции, определяемый по общему количеству совершенных интромиссий, необходимых для достижения эякуляции, во всех опытных группах был сопоставим с контрольными значениями.

Анализ скорости копуляции в различные сроки полового цикла подтвердил активирующее действие нейропептидов. Нейропептиды ДСИП и РТ-141 значимо увеличивали скорость спаривания в начале и середине полового цикла. Введение кисспептина-10 сопровождалось достоверным увеличением показателя только при выполнении самцами 6-й копулятивной серии (табл. 2).

Позитивное фармакологическое действие нейропептидов проявлялось в отношении показателя «доля сексуально активных самцов». При введении ДСИП и кисспептина-10 большая часть самцов совершили 8 копулятивных серий и более, в то время как в группе контроля самцам для достижения состояния «полового истощения» требовалось выполнить не более 7-ми копулятивных серий. Максимальный прирост показателя регистрировали при применении ДСИП. В группе с введением нейропептида статистически значимое увеличение

**Таблица 2.** Влияние пептидов на скорость копуляции самцов крыс в завершённом половом цикле

**Table 2.** Peptide impact on completed courtship cycle copulation rate in male rats

| Копуля-<br>тивная<br>серия | Контроль                            |               | Кисспептин- 10                      |               | ДСИП                                |               | РТ-141                              |               |
|----------------------------|-------------------------------------|---------------|-------------------------------------|---------------|-------------------------------------|---------------|-------------------------------------|---------------|
|                            | Скорость<br>копуляции,<br>интр./мин | Доля<br>жив-х | Скорость<br>копуляции,<br>интр./мин | Доля<br>жив-х | Скорость<br>копуляции,<br>интр./мин | Доля<br>жив-х | Скорость<br>копуляции,<br>интр./мин | Доля<br>жив-х |
| 1                          | 1,7<br>[1,3;2,2]                    | 6/6           | 3,1<br>[1,5;3,7]                    | 6/6           | 4,3<br>[2,4;7,0]*                   | 6/6           | 3,9<br>[3,1;6,0]*                   | 6/6           |
| 2                          | 1,5<br>[1,3;1,8]                    | 6/6           | 3,4<br>[2,9;5,5]                    | 6/6           | 2,8<br>[2,3;5,4]*                   | 6/6           | 2,9<br>[2,3;5,0]*                   | 6/6           |
| 3                          | 1,6<br>[1,4;2,0]                    | 6/6           | 3,5<br>[1,9;4,1]                    | 6/6           | 4,0<br>[2,9;5,0]*                   | 6/6           | 1,8<br>[1,2;2,3]                    | 6/6           |
| 4                          | 2,0<br>[1,6;2,1]                    | 6/6           | 2,7<br>[1,7;3,6]                    | 6/6           | 4,3<br>[2,8;5,3]*                   | 6/6           | 4,3<br>[3,6;5,6]*                   | 6/6           |
| 5                          | 1,7<br>[1,5;2,0]                    | 5/6           | 2,7<br>[1,2;5,0]                    | 6/6           | 3,7<br>[3,0;4,3]*                   | 6/6           | 2,9<br>[1,8;4,2]                    | 6/6           |
| 6                          | 1,3<br>[0,8;1,8]                    | 4/6           | 3,2*<br>[1,5;4,0]                   | 6/6           | 2,8<br>[2,3;3,7]*                   | 6/6           | 2,4<br>[1,6;2,8]                    | 6/6           |
| 7                          | 0,6<br>[0,2;1,2]                    | 4/6           | 3,4<br>[1,8;4,3]                    | 5/6           | 2,3<br>[1,4;3,4]*                   | 6/6           | 1,5<br>[0,7;1,9]                    | 4/6           |
| 8                          | —                                   | 0/6           | 2,2<br>[1,5;4,2]                    | 4/6*          | 2,5<br>[0,7;3,0]                    | 5/6*          | 0,6<br>[0,0;0,6]                    | 3/6*          |
| 9                          | —                                   | 0/6           | 1,2<br>[0,3;1,8]                    | 3/6*          | 1,3<br>[0,8;2,0]                    | 4/6*          | —                                   | 0/6           |
| 10                         | —                                   | 0/6           | 1,5<br>[1,0;1,9]                    | 2/6           | 1,6<br>[1,2;2,2]                    | 3/6*          | —                                   | 0/6           |
| 11                         | —                                   | 0/6           | 0,9<br>[0,9;0,9]                    | 1/6           | 2,0<br>[1,0;2,2]                    | 3/6*          | —                                   | 0/6           |
| 12                         | —                                   | 0/6           | —                                   | 0/6           | 0,8<br>[0,1;1,5]                    | 2/6           | —                                   | 0/6           |

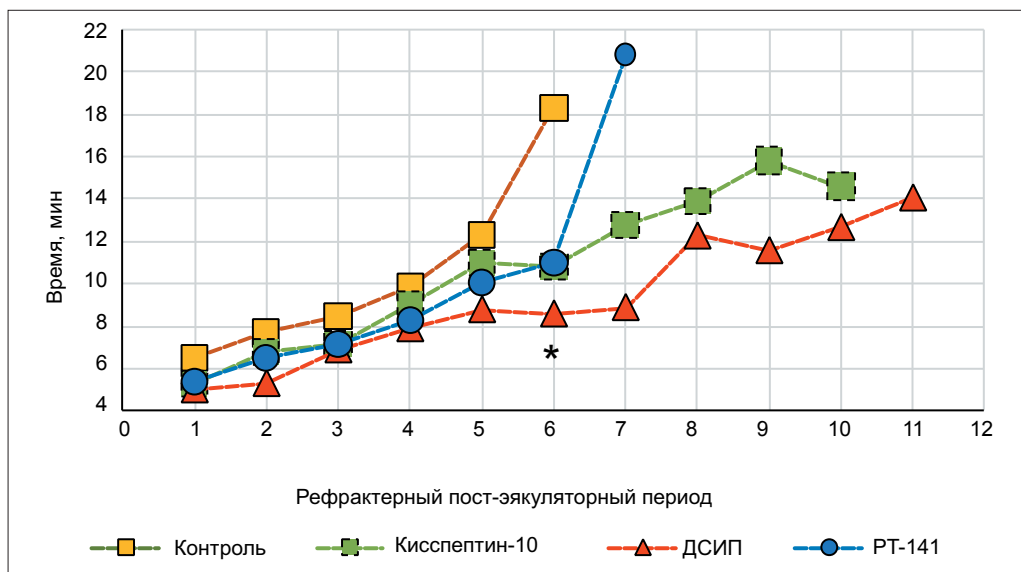
**Примечание:** \* — отличия от контрольных значений статистически значимы при  $p < 0,05$ .

**Note:** \* — statistical significance vs. control values,  $p < 0.05$ .

доли сексуально активных самцов отмечали с 8-й по 11-ю копулятивную серию. Напротив, введение бремеланотида вызывало кратковременное усиление половой активности самцов крыс: выполнение 9-й копулятивной серии в группе не отмечали.

Учитывая, что любое изменение характера полового поведения автоматически приводит к изменению сопряженных показателей, в т. ч. и относительных их величин, совместно с показателями «скорость копуляции» и «количество копулятивных серий», совершенных самцами до достижения состояния «полового истощения», проводили оценку длительности завершённого полового цикла. Установлено, что минимальные значения показателя соответствовали группе с введением ДСИП. Длительность завершённого полового цикла в опытной группе

составила 117,2 [102,0;132,8] мин против 135,7 [99,8;157,3] мин в группе контроля. На фоне введения нейропептидов претерпевал изменение показатель «суммарное время копулятивной активности» животных. Отмечали, что в группе с введением ДСИП длительность всех копулятивных серий не превышала 39,9 мин (36% от общей длительности полового цикла), в то время как в контроле этот показатель был более чем в 2 раза выше — 86,2 мин (61,4% от общей длительности полового цикла). Несмотря на то, что указанные изменения не носили статистически значимый характер, показано, что с одной стороны — введение ДСИП сопровождается усилением половой активности, проявляющимся в повышении значений показателей, отражающих состояние копуляторно-эякуляторного



**Рис. 1.** Влияние нейропептидов на длительность пост-эякуляторного рефрактерного периода.

**Примечание:** \* — значимые отличия от показателя животных контрольной группы,  $p < 0,05$ .

**Fig. 1.** Neuropeptide impact on post-ejaculatory refractory period duration.

**Note:** \* — significant differences from the indicator of animals of the control group,  $p < 0.05$ .

механизма, а с другой стороны, для реализации максимальных эффектов и достижения состояния «полового истощения» животным требуется вдвое меньше времени в сравнении с контролем.

Длительность завершенного полового цикла у самцов, получавших кисспептин-10 и PT-141, была сопоставима с контрольными значениями и составила 140,6 [121,5;175,3] мин и 132,4 [85,9;160,0] мин соответственно.

Для изучения влияния нейропептидов на уровень возбуждения животных был проведен сравнительный анализ длительности пост-эякуляторных рефрактерных периодов в течение завершенного полового цикла (рис. 1).

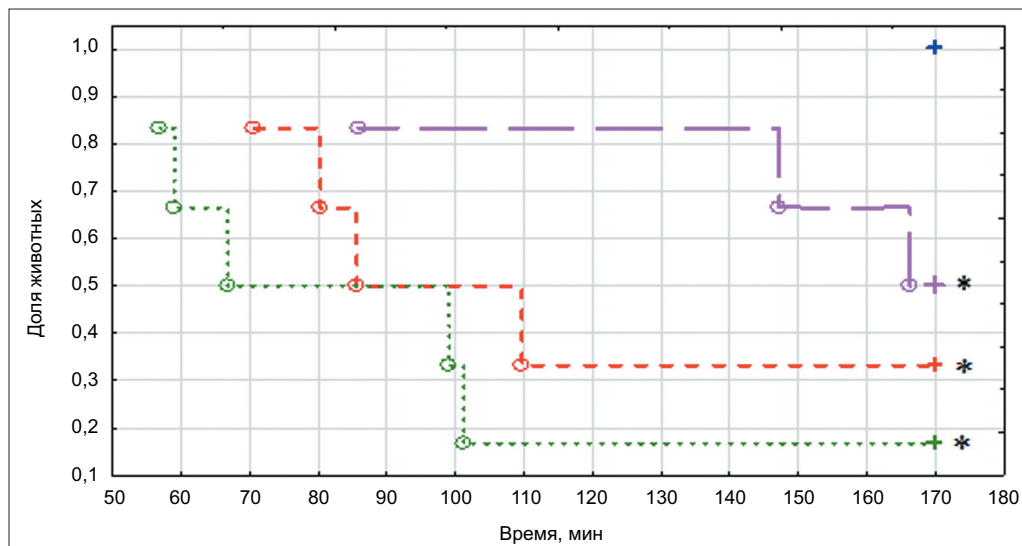
На кривых, характеризующих изменение длительности пост-эякуляторного рефрактерного периода, отмечали следующие особенности:

1) в начальной стадии полового цикла (до 5-го пост-эякуляторного рефрактерного периода) наблюдали плавный рост показателя

во всех экспериментальных группах. Применение нейропептидов не вызвало значимого сокращения времени отдыха самцов. Так, в группе контроля для возобновления копулятивной активности самцам требовалось в среднем 6,5–12,3 мин отдыха после 1–5-й копулятивной серии, в опытных группах — 5,0–10,1 мин соответственно;

2) в середине полового цикла регистрировали значимое снижение показателя в группе с введением ДСИП после выполнения самцами 6-й копулятивной серии. Время отдыха опытных самцов составило 8,6 [7,5;9,7] мин против 18,3 [16,6;21,8] мин в контроле (при  $p < 0,05$ );

3) в заключительной стадии полового цикла отсутствие контрольных данных не позволило выявить достоверного стимулирующего влияния нейропептидов на степень возбуждения животных. При применении ДСИП и кисспептина-10 отмечали дальнейшее плавное увеличение времени отдыха между копулятивными сериями,



**Рис. 2.** Доля животных и латентный период эякуляций в 8-й копулятивной серии. Распределение длительностей латентных периодов эякуляций представлены в виде кривых Каплана—Майера.

**Примечание:** • — животные, закончившие копулятивную серию эякуляцией; + — обозначены животные без эякуляции; \* — значимые отличия от показателя животных контрольных групп,  $p < 0,05$ ; + — контроль; — — кисспептин-10; ······ — ДСИП; — — РТ-141.

**Fig. 2.** Proportion of animals and ejaculation latency time in copulatory series 8. Ejaculation latency time distributions are Kaplan—Mayer curves.

**Note:** • — ejaculation at end of copulatory series; + — no ejaculation; \* — significance vs. control groups,  $p < 0.05$ ; + — control; — — kisspeptin-10; ······ — DSIP; — — PT-141.

при этом длительность рефрактерных периодов не превышала 15,8 мин. Сохранение копулятивной активности вплоть до 11-й и 12-й копулятивных серий свидетельствовало о высоком уровне возбуждения и сохранении половой мотивации у самцов опытных групп.

Вместе с тем данные о распределении животных в контрольной и опытных группах по показателю «латентный период эякуляции» подтверждали стимулирующее влияние кисспептина-10 и ДСИП в заключительной стадии полового цикла (рис. 2).

Для большей наглядности на рисунке в качестве завершающей представлена 8-я копулятивная серия. Применение ДСИП и кисспептина-10 сопровождалось снижением латентного периода эякуляций и значимым увеличением доли эякулировавших животных (при  $p < 0,05$ ). На фоне введения

РТ-141 сдвиги указанных параметров были менее выражены: латентные периоды эякуляции увеличивались, доля эякулировавших самцов составила 50 %.

Анализ завершающей копулятивной серии в половом цикле самцов крыс позволил выявить еще одну особенность действия нейропептидов. При введении кисспептина-10 и РТ-141 отмечали, что половина самцов в группе заканчивала половой цикл, достигая критерия несостоятельности. Это соответствовало характеру полового поведения контрольных животных. В то же время все самцы, получавшие ДСИП, заканчивали половой цикл, достигая критерия насыщения. Выявленная особенность могла свидетельствовать о подавлении половой мотивации (вследствие развившегося утомления у самцов) в конце полового цикла на фоне введения нейропептида.

## Обсуждение результатов

Из трех исследуемых нейропептидов наиболее эффективным в отношении стимулирующего влияния на показатели копуляторного поведения самцов крыс с естественным уровнем половой активности оказался ДСИП. Несмотря на то, что в большинстве работ ДСИП рассматривается как нейропептид стресс-лимитирующего действия [13], способный к подавлению реакций мозговых структур на восприятие внешних сенсорных стимулов [6], оказывающий релаксирующий и седативный эффекты [10], полученные в наших исследованиях данные свидетельствуют об активации механизмов регуляции полового поведения самцов. Стимулирующие эффекты ДСИП отмечали на протяжении всего полового цикла. Для опытной группы были характерны высокие показатели половой мотивации, степени возбуждения и копулятивной активности (скорость копуляции, снижение длительности отдыха, количество проведенных копулятивных серий, закончившихся эякуляцией, доля сексуально активных животных значимо превышали аналогичные показатели контрольной группы). При этом суммарное время активности не превышало 36% от общей длительности заверщенного полового цикла. Полученные результаты позволяют предположить, что ДСИП-индуцированная активация центральных механизмов регуляции половой функции характеризуется мощным стимулирующим потенциалом. Вместе с тем энергоемкость процесса спаривания, усиленная введением ДСИП, обуславливает краткосрочную реализацию стимулирующих эффектов с последующим полным угнетением половой мотивации в завершающей стадии цикла (все самцы заканчивали половой цикл, достигая критерия насыщения). В основе краткосрочности эффектов может лежать крайняя лабильность молекулы ДСИП и быстрое ее разрушение при введении извне, подтвер-

ждением чему служат биохимические исследования *in vivo* и *in vitro* [9]. Кроме того, в работе [7] указывается, что важное место в реализации эффектов ДСИП отводится генетико-типологическим особенностям животных и длительности курса его назначения. Возможно, изменение схемы дозирования будет способствовать повышению резистентности организма к выполнению физических нагрузок, в т.ч. процессов, связанных с репродуктивной деятельностью животных.

Менее выраженные эффекты были получены при изучении влияния кисспептина-10 на половое поведение самцов крыс. Позитивное фармакологическое действие нейропептида проявлялось в отношении показателей «скорость спаривания» в 6-й копулятивной серии, а также «латентный период эякуляции» и «доля животных» (сексуально активных самцы в заключительной стадии полового цикла в 8–9-й копулятивных сериях). Результаты свидетельствовали, что введение нейропептида позволяет поддерживать высокий уровень возбуждения в процессе всего полового цикла, в т.ч. и на завершающих его стадиях, когда вследствие ингибирующего действия предшествующих эякуляций активность животных снижена. Сохраняющаяся половая мотивация (у половины самцов группы отмечали сохранение копулятивной активности на протяжении 60-ти мин после начала завершающей копулятивной серии в отсутствие эякуляции — критерий несостоятельности) подтверждала активирующее действие нейропептида на механизмы регуляции полового поведения самцов крыс.

Отчетливое фармакологическое действие РТ-141 отмечали только в начале и в середине полового цикла по статистически значимому изменению параметров спаривания — увеличение скорости копуляции и увеличение количества сексуально активных животных. В то же время указанный нейропептид не оказывал влияния на про-

лонгацию половой активности самцов. Для достижения «полового истощения» самцам крыс требовалось совершить не более 8-ми копулятивных серий. Очевидно, что проведение дальнейших исследований с целью уточнения дозового диапазона и спектра эффективности РТ-141 позволит обозначить перспективы применения препарата в качестве средства лечения сексуальных дисфункций.

Обобщая полученные данные, необходимо отметить, что использование теста парного взаимодействия самца с самкой до достижения самцом состояния «полового истощения» не позволило оценить степень влияния изученных нейропептидов на мотивационный компонент полового поведения самцов крыс в начале полового цикла. Высокую скорость инициации спаривания и отсутствие садок без интромиссий регистрировали у животных всех экспериментальных групп, включая контрольных. Это могло объясняться высоким уровнем половой активности и предшествующим половым опытом самцов. Для корректной оценки влияния нейропептидов на мотивационный компонент полового поведения целесообразно использование моделей, изучающих процептивное поведение животных, — поведенческие реакции, побуждающие партнера спариваться.

Малоинформативным в отношении оценки влияния нейропептидов на степень возбуждения животных оказался и показатель «общее количество интромиссий». Полученные значения в опытных группах были выше, но статистически значимых различий с контролем не отмечали. Известно, что продолжительная генитальная стимуляция (большое количество интромиссий) свидетельствует о развитии утомления и, как следствие, снижении уровня возбуждения. В то же время высокие значения показателя в нашем исследовании были обусловлены, в первую очередь, увеличением количества совершенных самцами копуля-

тивных серий. Анализ динамики показателей «скорость копуляции» и «длительность пост-эякуляторных рефрактерных периодов» в ряде случаев подтвердил активирующее действие нейропептидов на степень возбуждения самцов крыс.

## Закключение

Изменение параметров поведения спаривания самцов крыс после однократного внутривбрюшинного введения ДСИП, кисспептина-10 и РТ-141 свидетельствует о стимулирующем действии нейропептидов на мотивационный и копуляторный компонент полового поведения. Наиболее выраженные позитивные эффекты отмечаются при применении ДСИП. Нейропептид значимо увеличивал долю сексуально активных самцов, скорость спаривания и среднее число эякуляций, необходимое для достижения состояния полового «истощения». Короткие латентные периоды эякуляций в завершающей стадии полового цикла, когда активность животных снижена, свидетельствовали о сохранении высокого уровня возбуждения самцов. В то же время краткосрочность реализации стимулирующих эффектов при применении ДСИП обуславливает необходимость коррекции схем дозирования и кратности введения нейропептида. Однократное введение РТ-141 способствует усилению половой активности самцов только в начале и середине полового цикла. Введение кисспептина-10 позволяет поддерживать высокий уровень возбуждения и половую мотивацию самцов в середине и конце полового цикла. В то же время результаты сравнительной оценки показателей копуляторного поведения — «количество проведенных копулятивных серий» и «количество эякуляций» — в течение заверщенного полового цикла не позволили получить статистически достоверный стимулирующий эффект соединения. Необходимо проведение дальнейших исследований по изуче-

нию роли пептидов в регуляции полового поведения и уточнения схем дозирования. Несомненный интерес представляет изучение влияния пептидных препаратов на половую функцию крыс при интраназальном

пути введения. Вместе с тем полученные результаты открывают перспективы применения нейропептидов в качестве средств коррекции сексуальных дисфункций у человека.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Белозерцева И.В. Экспериментальная фармакология полового поведения. В кн.: *Фармакология поведения*. СПб.: Издательство СПбГМУ. 2013:105–137. [Belozertseva I.V. Eksperimental'naya farmakologiya polovogo povedeniya [Experimental pharmacology of sexual behavior]. V kn.: *Farmakologiya povedeniya* [In the book: *Pharmacology of behavior*]. SPb: Izd-vo SPbGMU. 2013:105–137. (In Russian)].
2. Белых А.Е., Бобынцев И.И. Дельта-сон индуцирующий пептид: отдельные биологические эффекты и механизмы их развития. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2016;1:79–90. [Belykh A.E., Bobyntseva I.I. Del'ta-son indutsiruyushchiy peptid: ot del'nyye biologicheskiye efekty i mekhanizmy ikh razvitiya [Delta-sleep inducing peptide: individual biological effects and mechanisms of their development]. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik «Chelovek i yego zdorov'ye»* [Kursk Scientific and Practical bulletin "Man and his health"]. 2016;1:79–90. (In Russian)].
3. Белякова Н.А., Бонитенко Е.Ю., Носов А.В., Генералова К.Р., Лисицкий Д.С. Влияние нейропептидов на репродуктивную функцию самок неинбредных крыс. *Биомедицинский журнал Medline.ru*. 2019;20(1):1–16. [Belyakova N.A., Bonitenko E.Yu., Nosov A.V. Generalova K.R., Lisitskiy D.S. Vliyaniye neuropeptidov na reproduktivnyuyu funktsiyu samok neinbrednykh krys [The effect of neuropeptides on the reproductive function of female non-inbred rats]. *Biomeditsinskiy zhurnal Medline.ru* [Biomedical journal Medline.ru]. 2019;20(1):1–16. (In Russian)].
4. Белякова Н.А., Бонитенко Е.Ю., Носов А.В., Бонитенко К.Е. Коррекция пептидными препаратами нарушений репродуктивной функции самок крыс, вызванных длительным применением морфина. *Биомедицинский журнал Medline.ru*. 2019;20(9):81–93. [Belyakova N.A., Bonitenko E.Yu., Nosov A.V., Bonitenko K.E. Korrektsiya peptidnymi preparatami narusheniy reproduktivnoy funktsii samok krys, vyzvannykh dlitel'nym primeneniym morfina [Correction by peptide drugs of reproductive dysfunction of female rats caused by prolonged use of morphine]. *Biomeditsinskiy zhurnal Medline.ru* [Biomedical journal Medline.ru]. 2019;20(9):81–93. (In Russian)].
5. Бондаренко Т.И., Шустанова Т.А. Молекулярные эффекты дельта-сон-индуцирующего пептида в регуляции гомеостаза при стрессе. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2010;8(12):45–63. [Bondarenko T.I., Shustanova T.A. Molekulyarnyye efekty del'ta-son-indutsiruyushchego peptida v regulatsii gomeostaza pri stresse [Molecular effects of delta-sleep-inducing peptide in the regulation of homeostasis under stress]. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoj i farmatsevticheskoy khimii* [Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry]. 2010;8(12):45–63. (In Russian)].
6. Буреш Я., Бурешева О., Хьюстон Дж. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа. 1991:210. [Buresh Ya., Buresheva O., Kh'yuston Dzh. Metodiki i osnovnyye eksperimenty po izucheniyu mozga i povedeniya [Methods and basic experiments on the study of the brain and behavior]. Moscow: Vysshaya shkola Publ. 1991:210. (In Russian)].
7. Доведова Е.Л., Хрусталева Д.А. Активность ферментов обмена некоторых биогенных аминов в структурах мозга крыс линии Август при действии пептида дельта-сна. *Нейрохимия*. 2005;1:44–48. [Dovedova E.L., Khrustaleva D.A. Aktivnost' fermentov obmena nekotorykh biogennykh aminov v strukturakh mozga krys linii Avgust pri deystvii peptida del'ta-sna [The activity of metabolic enzymes of some biogenic amines in the brain structures of August rats under the action of the delta-sleep peptide]. *Neyrokhimiya* [Neurochemistry]. 2005;1:44–48. (In Russian)].
8. Доведова Е.Л., Хрусталева Д.А., Ещенко Н.Д. Эффекты ДСИП на фоне дисфункции моноаминергических систем в структурах мозга крыс линий Вистар и Август. *Вестник СПб. Университета*. 2007;3:75–79. [Dovedova E.L., Khrustaleva D.A., Yeshchenko N.D. Efekty DSIP na fone disfunktsii monoaminergicheskikh sistem v strukturakh mozga krys linii Vistar i Avgust [The effects of DSIP against the background of dysfunction of monoaminergic systems in the brain structures of Wistar and August rats]. *Vestnik SPb. Universiteta* [Vestnik St. Petersburg University]. 2007;3:75–79. (In Russian)].
9. Канунникова Н.П. Нейропротекторные свойства нейропептидов. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2017;15(5):492–498. [Kanunnikova N.P. Neyroprotektornyye svoystva neuropeptidov [Neuroprotective properties of neuropeptides]. *Zhurnal*

- Grodenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta [Journal of Grodno State Medical University]. 2017;15(5):492–498. (In Russian)].
10. Ковальзон В.М., Стрекалова Т.В. Дельта-сон индуцирующий пептид — тридцать лет спустя. *Нейрохимия*. 2006;23(4):276–282. [Koval'zon V.M., Strekalova T.V. Del'ta-son indutsiruyushchiy peptid — tridsat' let spustya [Delta-sleep inducing peptide thirty years later]. *Neyrokhiimiya [Neurochemistry]*. 2006;23(4):276–282. (In Russian)]
  11. Попова Н.С., Доведова Е.Л. Амфетаминовая функция дофаминергической системы и пептиды дельта-сна. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 1998;1–2:24–29. [Popova N.S., Dovedova E.L. Amfetaminovaya funktsiya dofaminer-gicheskoy sistemy i peptidy del'ta-sna [Amphetamine function of the dopaminergic system and peptides of delta sleep]. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenov [Russian Physiological Journal named after I.M. Sechenov]*. 1998;1–2:24–29. (In Russian)].
  12. Субботина С.Н., Парфёнова А.А., Юдин М.А., Быкова А.Ф. Сравнительный анализ информативности методов оценки полового поведения самцов крыс. *Журнал высшей нервной деятельности*. 2020;70(2):277–288. [Subbotina S.N., Parfenova A.A., Yudin M.A., Bykova A.F. Sravnitel'nyy analiz informativnosti metodov otsenki polovogo povedeniya samtsov krys [Comparative analysis of the information content of methods for assessing the sexual behavior of male rats]. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti [J. of Higher Nervous Activity]*. 2020;70(2):277–288. (In Russian)].
  13. Ярмолинская М.И., Ганбарли Н.Ф., Айламазян Э.К. Значение кисспептина в регуляции функции репродуктивной системы. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2016;LXV(6):4–18. [Yarmolinskaya M.I., Ganbarli N.F., Aylamazyan E.K. Znachenie kisspeptina v regulyatsii funktsii reproduktivnoy sistemy [The value of kisspeptin in the regulation of the reproductive system]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney [J. of Obstetrics and Women's Diseases]*. 2016;LXV(6):4–18. (In Russian)].
  14. Bogolepov N.N., Popova E.N., Koplik E.V., et al. Structural-functional organization of neurons in the cerebral cortex of rats with different levels of resistance to delta sleep-inducing peptide. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2004;34(6):611–616.
  15. Bondarenko T.I., Sorokina I.A., Mayboroda E.A., et al. Effect of delta sleep-inducing peptide on oxidative modification of proteins in rat tissues and blood during physiological aging. *Bull. Exp. Biol. and Med.* 2012;153(3):371–374.
  16. Calabro R.S., Caccialo A., Bruschetta D., et al. Neuroanatomy and function of human sexual behavior: A neglected of unknown issue? *Brain and Behavior*. 2019;9(12):e01389.
  17. Clayton A.H., Althof S.E., Kingsberg S., et al. Bremelanotide for female sexual dysfunctions in premenopausal women: a randomized, placebo-controlled dose-finding trial. *Womens health*. 2016;12(3):325–337.
  18. Diamond L.E., Earle D.C., Heiman J.R., et al. Original research — women's sexual health: an effect on the subjective sexual response in premenopausal women with sexual arousal disorder by bremelanotide (PT-141), a melanocortin receptor agonist. *J. of sexual medicine*. 2006;3(4):628–638.
  19. Diamond L.E., Earle D.C., Rosen R.C., et al. Double-blind, placebo-controlled evaluation of the safety, pharmacokinetic properties and pharmacodynamic effects of intranasal PT-141, a melanocortin receptor agonist, in healthy males and patients with mild-to-moderate erectile dysfunction. *Int. J. of Impotence Research*. 2004;16:51–59.
  20. Molinoff P.B., Shadiak A.M., Earle D.C., Diamond L.E. PT-141: Melanocortin agonist for the treatment of sexual dysfunction. *Ann. N.-Y. Acad. Sci.* 2003;994:96–102.
  21. Nejad S.Z., Tehrani F.R., Vakili A.Z. The role of kisspeptin in Female Reproduction. *Int. J. of Endocrinology and Metabolism*. 2017;15(3):1–11.
  22. Pielecka-Fortuna J., Chu Z., Moenter S. Kisspeptin acts directly and indirectly to increase Gonadotropin-Releasing hormone neuron activity and its effects are modulated by estradiol. *Endocrinology*. 2008;149(4):1979–1986.
  23. Shadiack A.M., Sharma S.D., Earle D.C., Spana C., Hallam T.J. Melanocortins in the treatment of male and female sexual dysfunction. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2007;7:1137–1144.
  24. Yang L., Demetriou L., Wall M.B., et al. Kisspeptin enhances brain responses to olfactory and visual cues of attraction in men. *JCI Insight*. 2020;5(3):e133633.
  25. Young S.A. “kiss” before conception: triggering ovulation with kisspeptin-54 may improve IVF. *J. of Clinical Investigation*. 2014;124(8):3277.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Субботина Светлана Николаевна\*, к.б.н.,  
ФГБУ «Государственный научно-исследователь-  
ский испытательный институт военной медици-  
ны» Минобороны России;  
e-mail: [gniiym\\_15@mil.ru](mailto:gniiym_15@mil.ru)

Svetlana N. Subbotina\*, Cand. Sci. (Biol.), State  
Research Testing Institute of Military Medicine of  
the Ministry of Defense of Russia;  
e-mail: [gniiym\\_15@mil.ru](mailto:gniiym_15@mil.ru)

**Юдин Михаил Анатольевич**, д.м.н., доц.,  
ФГБУ «Государственный научно-исследователь-  
ский испытательный институт военной медици-  
ны» Минобороны России;  
e-mail: [gniiivm\\_15@mil.ru](mailto:gniiivm_15@mil.ru)

**Парфёнова Анастасия Альбертовна**, ФГБУ  
«Государственный научно-исследовательский  
испытательный институт военной медицины»  
Минобороны России;  
e-mail: [gniiivm\\_15@mil.ru](mailto:gniiivm_15@mil.ru)

**Кряжевских Алексей Александрович**, ФГБУ  
«Государственный научно-исследовательский  
испытательный институт военной медицины»  
Минобороны России;  
e-mail: [gniiivm\\_15@mil.ru](mailto:gniiivm_15@mil.ru)

**Орлова Анастасия Борисовна**, ФГБУ «Государ-  
ственный научно-исследовательский испытатель-  
ный институт военной медицины» Минобороны  
России;  
e-mail: [gniiivm\\_15@mil.ru](mailto:gniiivm_15@mil.ru)

**Mikhail A. Yudin**, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof.,  
State Research Testing Institute of Military  
Medicine of the Ministry of Defense of Russia;  
e-mail: [gniiivm\\_15@mil.ru](mailto:gniiivm_15@mil.ru)

**Anastasiya A. Parfyonova**, State Research Testing  
Institute of Military Medicine of the Ministry of  
Defense of Russia;  
e-mail: [gniiivm\\_15@mil.ru](mailto:gniiivm_15@mil.ru)

**Aleksey A. Kryazhevskikh**, State Research Testing  
Institute of Military Medicine of the Ministry of  
Defense of Russia;  
e-mail: [gniiivm\\_15@mil.ru](mailto:gniiivm_15@mil.ru)

**Anastasiya B. Orlova**, State Research Testing  
Institute of Military Medicine of the Ministry of  
Defense of Russia;  
e-mail: [gniiivm\\_15@mil.ru](mailto:gniiivm_15@mil.ru)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author