

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

ISSN 2074-5982 (print)

# БИОМЕДИЦИНА

SCIENTIFIC JOURNAL

JOURNAL BIOMED

Том (Vol.) 16  
2020

1



## Уважаемые коллеги!

Приглашаем вас принять участие в **ежегодной научно-практической конференции «Биомедицина и биомоделирование»**, которая будет проводиться **20–21 мая 2020 г.** в Научном центре биомедицинских технологий ФМБА России по адресу:

**143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, владение 1,**  
**тел.: +7 (495) 561-52-64, факс +7 (495) 561-52-73**  
**e-mail: [info@scbmt.ru](mailto:info@scbmt.ru); [scbmt@yandex.ru](mailto:scbmt@yandex.ru)**

Предполагаемые темы для формирования программы конференции:

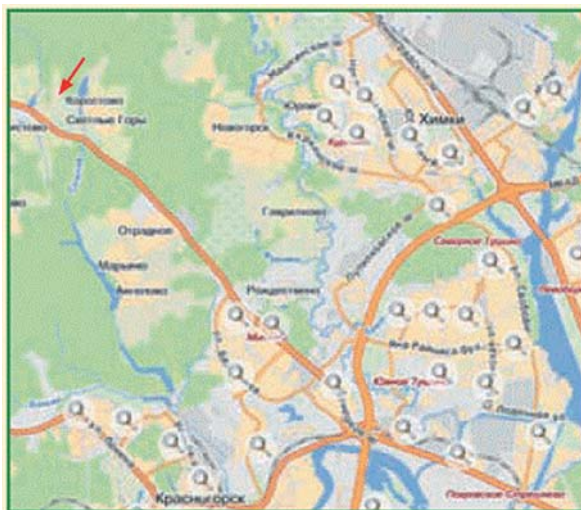
1. **Лабораторные животные** (модели животных в биомедицинских исследованиях, биоэтические нормы и принципы в экспериментальной работе, новые методы оценки функциональных состояний животных, лабораторные животные в современных фармакологических и токсикологических исследованиях, животные-модели и модели животных в сравнительных биологических исследованиях, новые технологии содержания, требования GLP).
2. **Альтернативное и биологическое моделирование в биомедицинских исследованиях** (биологические и клеточные, математические, физико-химические модели, животные-модели).
3. **Новые биомедицинские технологии.**
4. **Спортивная биомедицина.**
5. **Методы биомедицинских исследований.**
6. **Работоспособность и выносливость в спортивной биомедицине.**
7. **Биомоделирование в клинической фармакологии.**

Время для доклада на пленарном заседании: 20 минут, на секциях — 10 минут. Возможно представление стендовых докладов. Просьба к участникам выслать материалы докладов с указанием фамилии, имени, отчества (полностью), учреждения и названия доклада до 1 мая 2020 года.

## СХЕМА ПРОЕЗДА

Проезд от станции метро «Пятницкое шоссе» на автобусе 575, 32 (прямой), маршрутном такси 164к, 575, 1016, 1212к, Митино—Брёхово до остановки «Марьино-Знаменское», далее пешком до Центра через посёлок, на автобусе 32 (с заездом в Светлые горы) до остановки «Светлые горы».

На автомобиле: по Пятницкому шоссе (6 км от МКАД) до поворота на Светлые горы, мимо пруда до магазина, после него поворот по указателю налево, между двух прудов по дамбе прямо до Центра.



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

# БИОМЕДИЦИНА

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2005 г.  
4 выпуска в год

---

2020, Том 16, № 1

---

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

# JOURNAL BIOMED

SCIENTIFIC JOURNAL

Published since 2005.  
Quarterly.

---

2020, Vol. 16, No. 1

---

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

### ■ Заместитель главного редактора

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

### ■ Ответственный секретарь

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

### ■ Члены редакционного совета

**Анохин Константин Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, руководитель отдела нейронаук НИЦ «Курчатовский институт» (Москва, Россия)

**Ачкасов Евгений Евгеньевич**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой спортивной медицины и медицинской реабилитации ФГАОУ ВО «Первый Московский медицинский государственный университет им. И. М. Сеченова» Минздрава России (Москва, Россия)

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

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

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

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

**Галенко-Ярошевский Павел Александрович**, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, заведующий кафедрой фармакологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Краснодар, Россия)

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



# БИОМЕДИЦИНА

Biomeditsina

**Дубина Михаил Владимирович**, доктор медицинских наук, академик РАН, директор ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства (Санкт-Петербург, Россия)

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

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

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

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

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

**Максимович Наталия Евгеньевна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической физиологии им. Д. А. Маслакова УО «Гродненский государственный медицинский университет» (Гродно, Республика Беларусь)

**Матишов Геннадий Григорьевич**, доктор географических наук, профессор, академик РАН, член Президиума РАН, научный руководитель

Южного научного центра РАН, председатель Президиума ЮНЦ РАН (Ростов-на-Дону, Россия)

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

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

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

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

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

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

**Сычев Дмитрий Алексеевич**, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, ректор, заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» (Москва, Россия)

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

# БИОМЕДИЦИНА

Biomeditsina

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

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

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

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

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

# БИОМЕДИЦИНА

## Biomeditsina

|                                     |                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| История издания журнала:            | Журнал издается с 2005 г.                                                                                                                                                                                                 |
| Периодичность:                      | 4 выпуска в год                                                                                                                                                                                                           |
| Префикс DOI:                        | 10.33647                                                                                                                                                                                                                  |
| ISSN                                | 2074-5982 (Print)                                                                                                                                                                                                         |
| Свидетельство о регистрации СМИ:    | Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати. Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС77-21324 от 09.06.2005                                                                                                                 |
| Индексация:                         | Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук               |
| Подписной индекс:                   | 57995 в каталоге «Издания органов научно-технической информации» ОАО «Роспечать»                                                                                                                                          |
| Стоимость одного выпуска:           | 400 руб.                                                                                                                                                                                                                  |
| Условия распространения материалов: | Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License                                                                                                                                                   |
| Учредитель:                         | ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»<br>143442, Московская обл., Красногорский р-н,<br>п. Светлые горы, владение 1                                         |
| Издатель:                           | ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»<br>143442, Московская обл., Красногорский р-н,<br>п. Светлые горы, владение 1                                         |
| Редакция:                           | 143442, Московская обл., Красногорский р-н,<br>п. Светлые горы, владение 1<br>Тел.: +7 (495) 561-52-64<br>E-mail: <a href="mailto:info@scbmt.ru">info@scbmt.ru</a> , <a href="mailto:scbmt@yandex.ru">scbmt@yandex.ru</a> |
| Тираж:                              | 3000 экземпляров                                                                                                                                                                                                          |
| Типография:                         | ООО «БЕАН»<br>603003, Нижегородская обл, Нижний Новгород, ул. Баррикад, д. 1                                                                                                                                              |
| Дата выхода в свет:                 | 10.03.2020                                                                                                                                                                                                                |

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

## ■ Deputy Editor-in-Chief

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

## ■ Executive Secretary

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

## ■ Members of Editorial Council

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

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

**Viktor M. Baranov**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Deputy General Director — Director of the Research Institute of Space Medicine, Federal Scientific and Clinical Center for Specialized

Medical Assistance and Medical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency (Moscow, Russia)

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

**Mikhail V. Dubina**, Doctor of Medical Sciences, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the State Research Institute for Highly Clean Biological Preparations of the Federal Medical and Biological Agency (Saint Petersburg, Russia)

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

**Pavel A. Galenko-Yaroshevskiy**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Pharmacology Kuban State Medical University of the Ministry of Healthcare of Russia (Krasnodar, Russia)

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

**Dmitriy F. Khritinin**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian



# JOURNAL BIOMED

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

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

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

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

**Nataliya Ye. Maksimovich**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pathological Physiology named after D. A. Maslakov of the Grodno State Medical University (Grodno, Republic of Belarus)

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

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

**Arkadiy N. Murashev**, Doctor of Biological Sciences, Professor, Deputy Director, Head of the Laboratory of Biological Testing, Branch of the Shemyakin — Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry

of the Russian Academy of Sciences (Pushchino, Moscow region, Russia)

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

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

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

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

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

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

**Dmitriy A. Sychev**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Rector, Head of Department of Clinical Pharmacology and Therapeutics, Russian Medical Academy of Postgraduate Education (Moscow, Russia)

**Boris D. Tsygankov**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Psychiatry, Psychotherapy and Addiction, A. I. Yev-

# JOURNAL BIOMED

dokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (Moscow, Russia)

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

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

**Mikhail I. Voevoda**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine — Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia)

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

# JOURNAL BIOMED

|                                             |                                                                                                                                                                                                                                                  |
|---------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Founded:</b>                             | The journal has been published since 2005.                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Frequency:</b>                           | Quarterly                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>DOI Prefix:</b>                          | 10.33647                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>ISSN</b>                                 | 2074-5982 (Print)                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>Mass media registration certificate:</b> | Registered at the State Committee of the Russian Federation on Press under the number ПИ № ФС77-21324 от 09.06.2005                                                                                                                              |
| <b>Indexing:</b>                            | The Journal is included into the Higher Attestation Commission (HAC) list of periodicals (the list of leading per-reviewed scientific journals recommended for publishing the basic research results of doctor and candidate theses)             |
| <b>Subscription index:</b>                  | 57995 in the catalogue "Izdaniya organov nauchno-tehnicheskoy informatsii" of the Rospechat agency                                                                                                                                               |
| <b>Price:</b>                               | 400 RUR                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>Content distribution terms:</b>          | Content is distributed under Creative Commons Attribution 4.0 License                                                                                                                                                                            |
| <b>Founders:</b>                            | Scientific Center of Biomedical Technologies<br>of the Federal Medical and Biological Agency of Russia<br><br>143442, Russian Federation, Moscow region, Krasnogorsk district, Svetlye gory village, building 1                                  |
| <b>Publisher:</b>                           | Scientific Center of Biomedical Technologies<br>of the Federal Medical and Biological Agency of Russia<br><br>143442, Russian Federation, Moscow region, Krasnogorsk district, Svetlye gory village, building 1                                  |
| <b>Editorial office:</b>                    | 143442, Russian Federation, Moscow region, Krasnogorsk district, Svetlye gory village, building 1<br>Tel.: +7 (495) 561-52-64<br>E-mail: <a href="mailto:info@scbmt.ru">info@scbmt.ru</a> , <a href="mailto:scbmt@yandex.ru">scbmt@yandex.ru</a> |
| <b>Circulation:</b>                         | 3000 copies                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Printing house:</b>                      | BEAN, LLC.<br>603003, Russian Federation, Nizhny Novgorod region, Nizhny Novgorod, Barrikad str., 1                                                                                                                                              |
| <b>Publication date:</b>                    | 10.03.2020                                                                                                                                                                                                                                       |

## ■ НОВЫЕ БИМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

**Н.Н. Каркищенко, В.Н. Каркищенко, Ю.В. Фокин**

О механизмах фармакологической модуляции обсессивно-компульсивных и когнитивных расстройств кошек, распознаваемых методом нормирования БПФ-преобразуемых функций электрограмм фронтальной коры головного мозга и гиппокампа ..... 12

**С.Л. Люблинский, И.Н. Люблинская, В.П. Галочкина, Е.М. Колоскова, В.Н. Каркищенко, М.С. Нестеров, И.А. Берзин, Р.А. Агельдинов, Р.С. Чурюкин**

Совершенствование технологии выделения, заготовки и консервации мускуса кабарги с целью стандартизации и получения фармацевтической продукции ..... 28

## ■ МЕТОДЫ БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**В.Н. Каркищенко, Н.В. Петрова, Н.В. Станкова, В.В. Слободенюк, О.В. Алимкина, М.И. Кулакова, И.А. Васильева**

Исследование и оценка молекулярно-генетических признаков экспрессии гена *NFE2L2* при адаптации к физическим нагрузкам у мини-пигов ..... 42

**О.А. Ведясова, Т.Е. Ковалева, А.И. Будаев**

Анализ роли ГАМКергических механизмов в регуляции респираторной активности парафациальных структур ствола мозга у крыс ..... 56

## ■ РЕЛЕВАНТНОЕ И АЛЬТЕРНАТИВНОЕ БИМОДЕЛИРОВАНИЕ

**Р.А. Клёсов, В.Н. Каркищенко, О.И. Степанова, О.В. Баранова**

Сравнительное экспериментальное биомоделирование НПВС-индуцированного энтероколита. .... 65

**А.Р. Гайнетдинов, З.С. Фесенко, З.Р. Хисматуллина**

Поведенческие изменения у крыс-гетерозигот по нокауту гена дофаминового транспортера DAT ..... 82

**В.В. Криштоп, Т.А. Румянцева, Д.А. Пожилов**

Экспрессия GFAP в коре больших полушарий при развитии церебральной гипоксии у крыс с различными результатами в лабиринте Морриса ..... 89

## ■ NEW BIOMEDICAL TECHNOLOGIES

- Nikolay N. Karkischenko, Vladislav N. Karkischenko, Yuriy V. Fokin**  
Mechanisms of the Pharmacological Modulation of Obsessive-Compulsive  
and Cognitive Disorders in Cats Recognized by the Method of Normalizing  
FFT-Convertible Functions of Electrograms of the Frontal Cortex and Hippocampus. . . . . 12

- Stanislav L. Lyublinskiy, Irina N. Lyublinskaya, Valentina P. Galochkina,  
Elena M. Koloskova, Vladislav N. Karkischenko, Maxim S. Nesterov, Igor A. Berzin,  
Ruslan A. Ageldinov, Roman S. Churyukin**  
Improving the Technology of Extraction, Preparation and Conservation  
of Musk Deer Extract for the Standardization and Production  
of Pharmaceutical Substances . . . . . 28

## ■ BIOMEDICAL METHODS

- Vladislav N. Karkischenko, Nataliya V. Petrova, Nataliya V. Stankova,  
Vladimir V. Slobodenyuk, Oksana V. Alimkina, Mariya I. Kulakova, Irina A. Vasil'eva**  
Study and Evaluation of Molecular Genetic Signs of the *NFE2L2* Gene  
Expression during Adaptation to Physical Loads in Mini Pigs . . . . . 42

- Olga A. Vedyasova, Tatiana E. Kovaleva, Alexander I. Budaev**  
Analysis of the Role of GABAergic Mechanisms in Regulation  
of the Respiratory Activity of Parafacial Structures of the Brainstem in Rats . . . . . 56

## ■ RELEVANT AND ALTERNATIVE BIOMODELING

- Roman A. Klesov, Vladislav N. Karkischenko, Olga I. Stepanova, Oxana V. Baranova**  
Comparative Experimental Biomodelling of NSAID-induced Enterocolitis . . . . . 65

- Albert R. Gainetdinov, Zoya S. Fesenko, Zuhra R. Khismatullina**  
Behavioural Changes in Heterozygous Rats by Gene Knockout  
of the Dopamine Transporter (DAT) . . . . . 82

- Vladimir V. Chrishtop, Tatyana A. Rumyantseva, Dmitry A. Pozhilov**  
GFAP Expression in the Cerebral Cortex during the Development  
of Cerebral Hypoxia in Rats Showing Different Results in the Morris Water Maze. . . . . 89

## О МЕХАНИЗМАХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ МОДУЛЯЦИИ ОБСЕССИВНО-КОМПУЛЬСИВНЫХ И КОГНИТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ КОШЕК, РАСПОЗНАВАЕМЫХ МЕТОДОМ НОРМИРОВАНИЯ БПФ-ПРЕОБРАЗУЕМЫХ ФУНКЦИЙ ЭЛЕКТРОГРАММ ФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ГИППОКАМПА

Н.Н. Каркищенко\*, В.Н. Каркищенко, Ю.В. Фокин

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

Фармакологическая модуляция и анализ психопатологических процессов у животных является оптимальным методом познания, определяющим возможности корреляции со схожими процессами у человека. Наши методы и подходы, построенные на принципах фармакологической модуляции системного поведения и нормирования БПФ-преобразуемых функций электрограмм головного мозга, позволяют выявлять количественные параметры интрацентральных отношений, когнитивных функций и фундаментальных механизмов оценки действия нейрорепроактивных препаратов в целостном мозге в условиях *in vivo*.

Работа проведена на кошках со стереотаксически имплантированными в головной мозг электродами. Для конструирования обсессивно-компульсивных расстройств и когнитивных изменений использовались субтерапевтические дозы кетамина, амфетамина и накома. Фармакологическая модуляция поведения оценивалась по влиянию на фронтальный мозг и гиппокамп, при котором, в частности, активация  $\gamma$ -ритмов (от 35 до 60 Гц) расценивалась как улучшение когнитивных функций. На прореальную извилину кетамин оказывает более выраженное депримирующее влияние при близких с амфетамином активирующих эффектах в частотных диапазонах 11–15 и 32–35 Гц. На переднюю супрасильвиеву извилину и гиппокамп кетамин оказывает выраженное активирующее влияние. Кетамин и наком обнаруживают схожие эффекты в области прореальной извилины, наиболее отчетливо проявляющиеся на частотах около 9–15 и 35–36 Гц. Действие накома характеризуется также эпизодами активации и в более высокочастотном диапазоне 40–55 Гц. В области передней супрасильвиевой извилины эффекты накома также схожи с кетамином, но имеют отличия в диапазоне 9–11 Гц. От эффектов амфетамина его отличает отсутствие эпизодов депримации в высокочастотном диапазоне 55–65 Гц. В области гиппокампа наком обнаруживает активирующее действие, превосходящее кетамин на 100–150%. Показано, что нейровизуализация нормированных функций электрограмм при фармакологической модуляции обсессивно-компульсивных и когнитивных расстройств отражает наиболее яркие преобразования в высокочастотных ритмах мозга, преимущественно относящихся к  $\gamma$ -диапазону.

Сопоставление результатов фармакомодуляции с фармакодинамическими и фармакокинетическими параметрами лекарств при воспроизведении психопатологий позволяет нам находить оптимальные пути модификации поведения и их экстраполяции на человека.

**Ключевые слова:** фармакологическая модуляция, обсессивно-компульсивные расстройства, когнитивные функции, психоделики, нейровизуализация, электрограммы головного мозга (ЭГМ), нормированная ЭГМ (НЭМ), быстрое преобразование Фурье (БПФ), кошки, гиппокамп, фронтальная кора мозга

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



**Для цитирования:** Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В. О механизмах фармакологической модуляции обсессивно-компульсивных и когнитивных расстройств кошек, распознаваемых методом нормирования БПФ-преобразуемых функций электрограмм фронтальной коры головного мозга и гиппокампа. *Биомедицина*. 2020;16(1):12–27. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-12-27>

Поступила 20.11.2019

Принята после доработки 28.01.2020

Опубликована 10.03.2020

## MECHANISMS OF THE PHARMACOLOGICAL MODULATION OF OBSESSIVE-COMPULSIVE AND COGNITIVE DISORDERS IN CATS RECOGNIZED BY THE METHOD OF NORMALIZING FFT-CONVERTIBLE FUNCTIONS OF ELECTROGRAMS OF THE FRONTAL CORTEX AND HIPPOCAMPUS

Nikolay N. Karkischenko\*, Vladislav N. Karkischenko, Yuriy V. Fokin

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

The pharmacological modulation and analysis of psychopathological processes in animals is a research method providing a possibility to study similar processes in humans. Methods and approaches based on the principles of the pharmacological modulation of systemic behaviour and normalization of FFT-transformed functions of the brain electrograms allow identification of the quantitative parameters of intracentral relations, cognitive functions and fundamental mechanisms for evaluating the effects of neuropsychotropic drugs in the whole brain *in vivo*.

The work was carried out on cats with stereotactically implanted electrodes in the brain. Subtherapeutic doses of ketamine, amphetamine and nakom were used to model obsessive-compulsive disorders and cognitive changes. The pharmacological modulation of the animals' behaviour was evaluated by the effect on the frontal brain and hippocampus. The activation of  $\gamma$ -rhythms (from 35 to 60 Hz) was considered as an improvement in cognitive functions. Ketamine exhibited a more pronounced depressing effect on the prefrontal gyrus, with its activating effects being close to amphetamine across the frequency ranges of 11–15 and 32–35 Hz. Ketamine had a pronounced activating effect on the gyrus suprasylvium anterior and the hippocampus. Ketamine and nakom demonstrated similar effects in the area of the prefrontal gyrus, most clearly manifested at frequencies of about 9–15 and 35–36 Hz. The action of nakom was characterized by the episodes of activation in a higher frequency range of 40–55 Hz as well. In the area of the gyrus suprasylvium anterior, the effects of nakom were similar to those of ketamine; however, these substances exhibited different effects in the range of 9–11 Hz. Compared to amphetamine, nakom showed no depressing episodes over the high-frequency range of 55–65 Hz. In the hippocampus, nakom demonstrated an activating effect exceeding that of ketamine by 100–150%. It was shown that neuroimaging of the normalized functions of electrograms during the pharmacological modulation of obsessive-compulsive and cognitive disorders reflects the most striking transformations in high-frequency brain rhythms, primarily related to the  $\gamma$ -range.

Comparison of the results of pharmacomodulation with the pharmacodynamic and pharmacokinetic parameters of drugs when modelling psychopathologies in animals helps researchers in their search for approaches to modifying animal behaviour and extrapolating them to humans.

**Keywords:** pharmacological modulation, obsessive-compulsive disorders, cognitive functions, psychedelics, neuroimaging, brain electrograms, normalized brain electrograms, fast Fourier transform, cats, hippocampus, frontal cortex

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

**For citation:** Karkischenko N.N., Karkischenko V.N., Fokin Yu.V. Mechanisms of the Pharmacological Modulation of Obsessive-Compulsive and Cognitive Disorders in Cats Recognized by the Method of Normalizing FFT-Convertible Functions of Electrograms of the Frontal Cortex and Hippocampus. *Journal Biomed.* 2020;16(1):12–27. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-12-27>

Submitted 20.11.2019

Revised 28.01.2020

Published 10.03.2020

## Введение

Психопатологические изменения у животных являются неотъемлемой частью существования и адаптации к сложным зоосоциальным условиям в природе и особенно в условиях лабораторного содержания. Наиболее яркими и часто наблюдаемыми являются нарушения в психоэмоциональной сфере, такие как обсессивно-компульсивное расстройство (ОКР), а также в психоинформационной сфере, такие как когнитивные нарушения [29, 25, 20]. Как по нашим данным, так и по сведениям из литературы, ОКР предполагают или включают в себя когнитивно-поведенческие расстройства.

Для полноты понимания необходима функционально-морфологическая привязка ОКР как нормального *выгодного процесса* у животных и человека, но зашедшего слишком далеко. М. Brüne [16] предполагает, что изменения различного происхождения в полосатом теле и лобных долях мозга, играющие определённую роль в прогнозировании потребностей и угроз, которые могут возникнуть в будущем, способны «запустить» гиперактивную систему предупреждения когнитивного вреда, когда человек начинает сознательно и необоснованно опасаться маловероятного или невозможного события, что справедливо не только для человека, но и для животных.

Изучение психопатологических изменений у животных возможно с помощью различных подходов к моделированию, но наиболее оптимально — с использованием фармакологической модуляции, которую мы неоднократно и на разных животных применяли в наших работах [3, 4, 6, 7].

Важными моментами такого вида моделирования является изучение их механизмов. Дадим некоторые определения и пояснения.

*Обсёссия* (лат. *obsessio* — осада, охватывание) — синдром, представляющий возникающие через неопределённые промежутки времени у человека навязчивые нежелательные произвольные идеи или представления. Человек может фиксироваться на таких мыслях, которые вызывают негативные эмоции или дистресс. От таких мыслей трудно избавиться или управлять ими. Обсессии могут быть (но не обязательно) связаны с *компульсиями* — навязчивым поведением. Согласно современным представлениям, к обсессиям не относятся иррациональные страхи (фобии) и навязчивые действия (компульсии) [33, 13, 19, 16, 18].

*Компульсивность* (лат. *compulsio* — принуждение) — склонность у человека к повторяющимся, стереотипным поведенческим актам: моторным, эмоциональным или интеллектуальным; повторяемость в одинаковой форме побуждений и действий, обычно выполняющих функцию защиты от навязчивого страха (например, идеаторные и сложные двигательные ритуалы, мытьё рук пациентами с навязчивым страхом загрязнения). В отличие от импульсивности, т. е. склонности немедленно поддаться хаотичному внутреннему порыву к действиям, компульсивность — это порыв, конвертируемый в упорядоченное поведение и предотвращение состояния хаоса. Иными словами, это навязчивое побуждение, субъективное ощущение чуждости, принудительного характера возникающих патологических побуждений совершить

нечто неприемлемое, противоестественное [8, 16, 18]. Обсессии и компульсии в виде отдельных поведенческих эквивалентов присутствуют у всех животных, но наиболее выразительны у обезьян, кошек и собак.

Предполагается, что чем больше мы узнаём, изучая ОКР у животных, тем больше мы сможем понять человеческую биологию и генетику, вовлечённые в наследственность восприимчивости к расстройствам, таким как ОКР [29]. У собак была обнаружена хромосома 7, которая создаёт высокий риск восприимчивости к ОКР [25], что помогло в дальнейшем изучить связь ОКР у людей у собак. Хромосома 7 экспрессируется в гиппокампе животных — той же области мозга, где и у людей. Таким образом, ответные реакции на фармакологическую модуляцию могут быть схожи как у человека, так и у животных [35, 28, 15, 18].

Другие авторы [20] утверждают, что животные — это будущее для понимания того, как лучше выявлять и лечить ОКР у людей. Исследования показывают, что некоторые методы лечения одинаково эффективны, например, для кошек, собак и для людей, но всё ещё существует много неизвестных деталей. Считается, что до настоящего времени ОКР невозможно полностью излечить, их удаётся лишь распознавать и контролировать [22, 26].

*Фармакологическая модуляция* (лат. *modulatio* — мерность, ритмичность) — количественно измеряемое изменение поведения или различных параметров функционирования живых систем под влиянием лекарственных средств, препаратов или веществ (различия — см. [1]).

Фармакологическая модуляция является тем инструментом, который позволяет получить у животных наиболее близкие к человеку проявления психопатологических расстройств. В своей работе мы использовали препараты, которые при существенно различных в интимных механизмах действиях тем не менее имеют общность в формиро-

вании характерных психопатологических изменений как у человека, так и у животных.

Нами исследовались кетамин (0,5 мг/кг), амфетамин (0,3 мг/кг), наком (100 мг/кг), т. е. в малых, субтерапевтических дозах, однократно. Мы прибегли к этому принципу потому, что все они в более высоких или предельных дозах обладают психоделическими свойствами и вызывают галлюцинаторные переживания, ОКР и др. психопатологические нарушения, а также извращения когнитивных функций. Использование малых доз позволяет выявить деликатные изменения в мозговых структурах-мишенях и их влияние на интрацентральные отношения головного мозга, раскрывающие механизмы ОКР и когнитивных расстройств.

Патологические состояния, в т. ч. болезнь Паркинсона, Альцгеймера и др., были изучены в основном на полосках изолированного гиппокампа [14, 23, 24, 34]. Результаты этих исследований свидетельствуют о взаимосвязи нейродегенеративных процессов с активностью преимущественно высокочастотных  $\beta$ - и  $\gamma$ -ритмов, отражающих эффекты вставочных нейронов корковых (особенно гиппокампальных) структур мозга.

**Целью работы** явилось изучение механизмов фармакологической модуляции обсессивно-компульсивных и когнитивных расстройств, определяемых методом нормирования с помощью быстрого преобразования Фурье (БПФ) функций электрограмм фронтальной коры (передней супрасильвиевой и прореальной извилины) и гиппокампа кошек.

## Материалы и методы

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

Кормление, содержание, карантин и обращение с животными соответствовали правилам, принятым Европейской конвенцией

по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123), Strasbourg, 1986). Исследования выполнялись согласно утвержденному письменному протоколу, в соответствии со стандартными операционными процедурами исследователя, санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев), а также с Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [9] и подробно описаны в наших предыдущих работах по данной тематике [6, 7].

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

### **Анализ эффектов нейрорепрограммирующих средств**

В работе исследовались:

**Амфетамин** — ингибитор обратного захвата дофамина и норадреналина,  $\alpha$ - и  $\beta$ -адреномиметик, психостимулятор, в дозе 0,3 мг/кг внутримышечно.

**Кетамин** — NMDA- и AMPA-антагонист, блокатор ионных каналов, взаимодействующий с  $\mu$ -опиатными рецепторами, в дозе 0,5 мг/кг внутримышечно.

**Наком** — компенсирует дефицит дофамина в мозге за счёт метаболического предшественника L-ДОФА, устраняет триаду болезни Паркинсона: гипокинезию, ригидность и тремор. При хроническом применении и в больших дозах — галлюцинации, возбуждение, расстройство сна, психотические расстройства. Применяли в дозе 100 мг/кг по леводопе.

Анализируемые препараты вводились натощак в дозах, эквивалентных массе тела кошек.

Некоторые первичные данные получены в ходе уникальных фармакологических экспериментов, проведённых в РГМИ [3, 4].

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

Выбор квазистационарных участков ЭГМ, алгоритмы нормирования данных ЭГМ и блок-схема используемого технического устройства представлены в работе [5].

### **Нейровизуализация психопатологических эквивалентов поведения и параметров ЭГМ**

В основе метода сравнительного анализа **НЭМ** (нормирование электрограмм мозга) лежит оценка изменений в частотной области спектра ЭГ, снятых до и после воздействия исследуемых факторов. Метод позволяет увидеть возбуждение или депрессию активности исследуемых областей мозга в определенных ЭГ-ритмах.

Основой является преобразование отсчётов оцифрованного сигнала ЭГ  $x(t)$  в амплитудный спектр  $f(\omega)$  посредством преобразования Фурье (1):

$$f(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} x(t)e^{-2\pi i\omega t} dt. \quad (1)$$

На практике нами применен вариант быстрого преобразования Фурье (БПФ) (2), поскольку он обеспечивает высокую скорость работы программного комплекса:

$$X_{TN}(k) = \sum_{n=0}^{N-1} x(nT) \omega\left(\frac{n}{N}\right) e^{-2\pi i \frac{kn}{N}}, \quad (2)$$

где  $k=0, 1, \dots, N-1$ .

### **Графическое представление результатов в соответствии с фармакокинетическими свойствами препаратов**

Поскольку изменения ритмических характеристик связаны в т. ч. со временем

влияния на активность мозга и ВНД, мы сочли необходимым сопоставить временные изменения с фармакокинетическими параметрами тестируемых средств, при этом учитывались и их фармакодинамические показатели. На графиках представлены наиболее характерные результаты по обозначенным реперным точкам.

Получаемые данные представлены на трёх графиках, нанесённых на круговую векторную диаграмму и отражающих средние значения:

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

На диаграмме отмечены:

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

На диаграммах указаны все частоты ЭГ анализируемого диапазона, и для удобства восприятия материала специалистами, привыкшими к традиционной форме интерпретации ЭГ, мы разграничили частоты согласно принятой классификации на дельта- ( $\delta$ -, 1–4 Гц), тета- ( $\theta$ -, 5–8 Гц), альфа- ( $\alpha$ -, 9–12 Гц), сигма- ( $\sigma$ -, 13–16 Гц), бета- ( $\beta$ -, 17–30 Гц) и гамма- ( $\gamma$ -, 31–64 Гц) диапазоны, хотя имеются и др. представления о границах диапазонов.

### **Выявление когнитивных функций и ОКР**

Когнитивные функции, которые, по нашим собственным данным и сведениям за-

рубежной литературы [5, 3, 4, 27, 30], связаны с активностью высокочастотного  $\gamma$ -диапазона [14, 23, 24, 34], оценивались субъективно, визуально (путём фото- и видеорегистрации), с помощью инструментальных методов измерения поведенческих эквивалентов (рис. 1), а также аналитических параметров БПФ-преобразования электрограмм локальных зон головного мозга кошек.

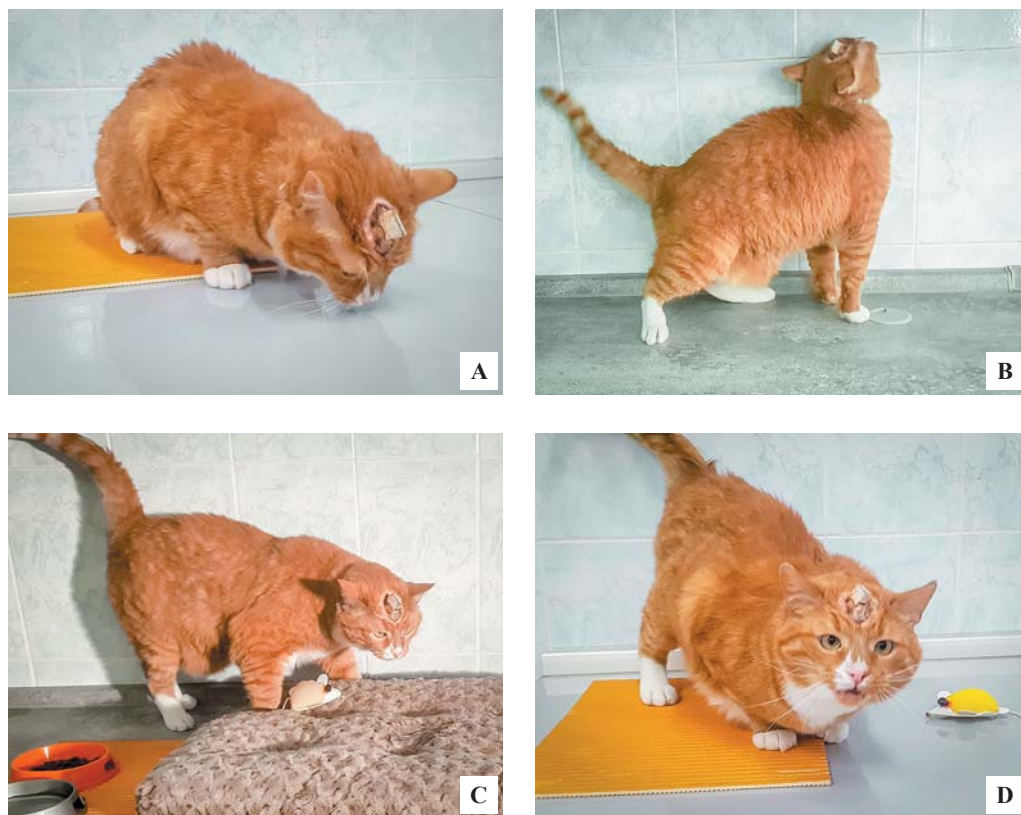
### **Результаты и их обсуждение**

Посредством регистрации и анализа ЭГ определены информативные параметры, свидетельствующие об изменении биоэлектрической активности мозга при действии исследуемых нейрорепрессивных средств.

Результаты влияния кетамина (доза — 0,5 мг/кг) на параметры ЭГМ и НЭМ представлены на рис. 2–4.

Кетамин — NMDA- и AMPA-антагонист, применяемый в клинической практике в качестве средства для наркоза [31]. Вызывает дозозависимое диссоциативное угнетение ЦНС, которое характеризуется глубокой анальгезией и амнезией с сохранением глазного, ларингеального, фарингеального, спинального и педального рефлексов. Кетамин оказывает действие на ЦНС, которое отличается от классических общих анестетиков. Вызванная им анестезия называется «диссоциативной анестезией», характеризующейся отрывом от окружающей среды, сопровождаемой поверхностным сном и интенсивной анальгезией. Кетамин работает главным образом в коре головного мозга и лимбической системе, блокируя ионные каналы рецепторов глутаминовой кислотой, возбуждающим нейротрансмитером в головном мозге. Предполагается, что анальгезия частично опосредуется  $\mu$ -рецепторами (парентеральное введение кетамина потенцирует антиноцицептивное действие фентанила через  $\mu$ -рецепторы). Он действует на уровне специфических опиоидных рецепторов ЦНС, снижает





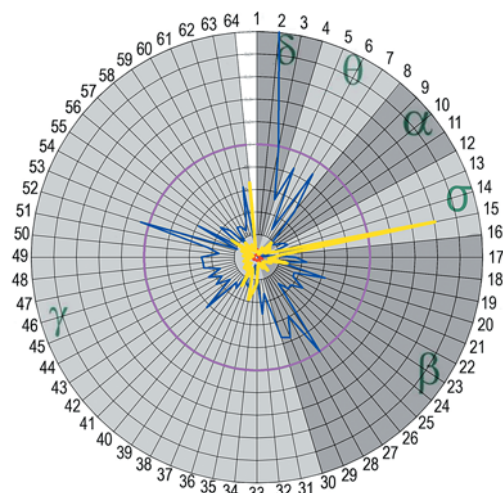
**Рис. 1.** Визуализируемые этологические проявления при фармакологической модуляции: А — навязанная ориентировочно-исследовательская активность (обнюхивание); В — эйфорическая активность (обтирание об стену); С — замирание; D — гиперкинез туловища.

**Fig. 1.** Visualized ethological manifestations during pharmacological modulation: A — imposed orientational research activity (sniffing); B — euphoric activity (rubbing on the wall); C — fading; D — trunk hyperkinesis.

функцию таламуса, что приводит к недифференцированным ощущениям. Кетамин также уменьшает функцию гипоталамуса, приводя к появлению эмоциональных реакций, отделённых от реальности, в связи с чем используется также для лечения аффективных расстройств. Принятый в дозе 500 мг и выше, он вызывает кратковременное (около 15-ти мин) ощущение деперсонализации, нереальности, отрешённости от тела. Обладая психоделическим действием, является «клубным наркотиком». Галлюцинации в период выхода из наркоза сопровождаются красочными визуальными эффектами, описываются как «путеше-

ствие в себя», «посещение других миров», искажение чувства времени (расширение), эйфория. Начало действия составляет 5–10 мин после приёма и сохраняется 1–3 ч. Самый сильный эффект от высоких доз кетамина называется K-hole — кетаминовая яма. Это состояние, при котором происходит потеря контакта с внешним миром и наличие неприятных ощущений, близости смерти и кошмаров (психиатры сравнивают это состояние с сильными симптомами шизофрении).

Приблизительно через 10–20 мин после введения тестируемого препарата на ЭГ в области передней супрасильвиевой изви-



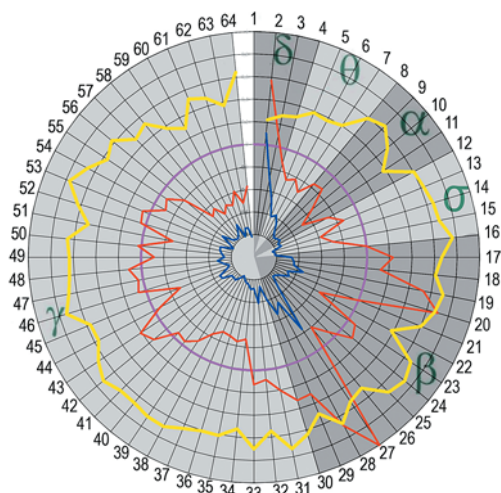
**Рис. 2.** Параметры ЭГМ и НЭМ в области Pr (Gyrus preceus — прореальная извилина) через 20 мин после введения кетамина. Синяя кривая — фоновые измерения, красная кривая — воздействие, желтая кривая — НЭМ. Розовый контур — базисная линия нормирования. Цифровое кодирование — частоты, Гц. Круговые сектора — спектральные характеристики ЭГМ.

**Fig. 2.** BE and NBE parameters in the Pr brain area — pro-real gyrus 20 min after the administration of ketamine. The blue, red and yellow curves demonstrate background measurements, impact and NBE, respectively. The pink contour is the basic line of valuation. Digital coding on the perimeter is the frequency, Hz. Circular sectors are the spectral characteristics of BE.

лины и гиппокампа наблюдается его пиковое действие в виде тотальной активации ритмов на 60–80 и 40–80% соответственно. Данные эффекты сохраняются на протяжении 1–1,5 ч. При этом наиболее значимы их нейровизуализация в высокочастотных  $\beta$ - и  $\gamma$ -диапазонах (около 25, 45 и 60 Гц).

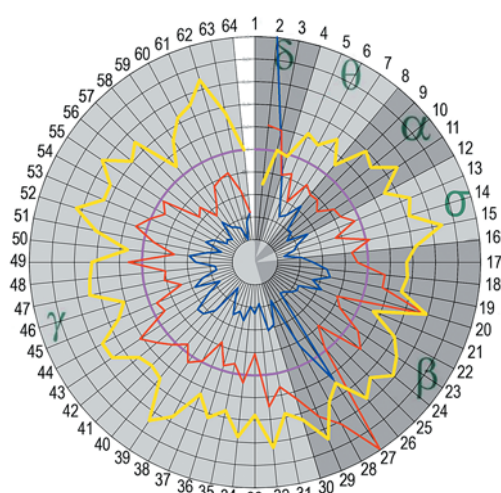
В области прореальной извилины прослеживается обратный эффект — преимущественное угнетение с элементами активации (на 150%) частоты около 15 Гц, относящейся к  $\sigma$ -диапазону (т. н. «сонные веретёна»), а также в высокочастотных  $\beta$ - и  $\gamma$ -диапазонах (около 35 и 55 Гц), на 60%.

Спустя сутки после введения регистрируемая НЭМ в области гиппокампа и передней супрасильвиевой извилины соответствует фоновым значениям до эксперимента,



**Рис. 3.** Параметры ЭГМ и НЭМ в области GSSA (Gyrus suprasylvius anterior; передняя супрасильвиева извилина) через 20 мин после введения кетамина. Все обозначения — как на рис. 2.

**Fig. 3.** BE and NBE parameters in the GSSA brain area — Gyrus suprasylvius anterior — front suprasilviev gyrus 20 min after the administration of ketamine. For all designations, refer to Fig. 2.



**Рис. 4.** Параметры ЭГМ и НЭМ в области HIP — (Hippocampus, гиппокамп) через 20 мин после введения кетамина. Все обозначения — как на рис. 2.

**Fig. 4.** BE and NBE parameters in the HIP brain area — Hippocampus — 20 min after the administration of ketamine. For all designations, refer to Fig. 2.



а в прореальной извилине сохраняются депримирующие эффекты.

Таким образом, действие кетамина проявляется с первых минут введения, чему способствует его легкое проникновение через ГЭБ, что согласуется с фармакокинетическими параметрами. При этом эффект достаточно длительный (несколько часов), в связи с чем препарат используется в качестве наркотического средства.

Результаты влияния амфетамина (доза — 0,3 мг/кг) на параметры ЭГМ и НЭМ представлены на рис. 5–7.

Амфетамин — психостимулирующее средство, способствующее высвобождению из везикулярного пула пресинаптических нервных окончаний и тормозящее обратный захват дофамина и норадреналина, ингибирующее МАО. Опосредованно (вследствие накопления норадреналина и дофамина) стимулирует центральные дофамин- и норадренергические рецепторы (оказывает психостимулирующее и анорексигенное действие), обладает периферической  $\alpha$ - и  $\beta$ -адреномиметической активностью. Изменения в состоянии нервной системы при приёме вещества: повышение внимания и способности концентрации; улучшение настроения; уменьшение потребности во сне и пище; ощущение уверенности в себе и комфорта; повышение двигательной активности и работоспособности; разговорчивость; ощущение собственного превосходства. При систематическом приёме изменяется состояние психики — «амфетаминовый (стимуляторный) психоз», схожий по симптоматике с параноидной шизофренией. Это состояние сопровождается бессонницей, дрожанием конечностей, бредом, галлюцинациями, перепадами настроения, состоянием паники. Передозировка амфетамином вызывает также развитие стереотипного поведения, заключающегося в повторении одного и того же действия на протяжении нескольких часов, а также ОКР и когнитивные расстройства.

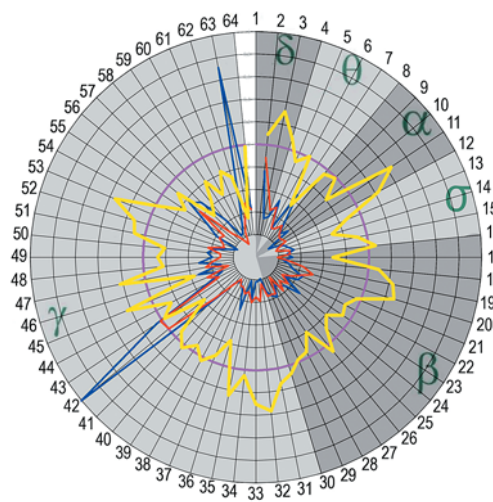
Показано, что однократная доза амфетамина оказывает возбуждающее действие, которое прослеживается уже через несколько минут после введения и сохраняется приблизительно в течение 6–8 ч. Наиболее выраженное действие достигается примерно к 2 ч после введения, когда ещё отсутствует генерализация и не включаются компенсаторные, приспособительные и защитные механизмы. В передней супрасильвиевой извилине обнаруживаются существенные пики НЭМ в высокочастотных  $\beta$ - и  $\gamma$ -диапазонах (около 20, 40 и 55 и 60 Гц на 60–120%), а в прореальной извилине и гиппокампе при общей тенденции к сохранению фонового уровня активности отмечаются эпизоды значительной активации и в  $\alpha$ -диапазоне (около 10 Гц на 80%).

Спустя сутки после введения активность всех исследуемых областей мозга соответствует исходным значениям.

Эффекты нейровизуализации отражают фазный характер влияния вещества на когнитивные функции, выносливость, работоспособность, цикл сна—бодрствования и ВНД животных и человека в соответствии с фармакокинетическими свойствами.

Результаты влияния накома (доза — 100 мг/кг) на параметры ЭГМ и НЭМ представлены на рис. 8–10.

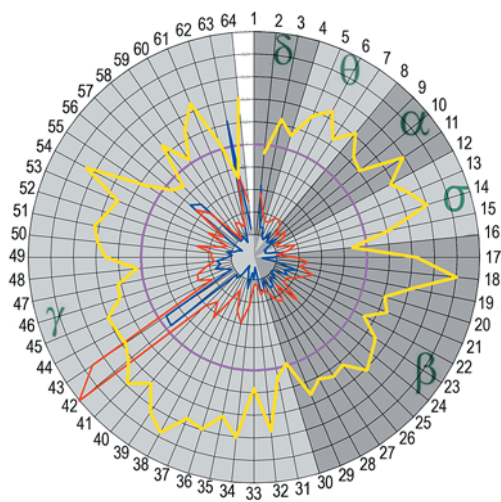
Наком — активными веществами являются леводопа (предшественник дофамина), преимущественно влияющая на нигростриатную систему, и карбидопа (ингибитор декарбоксилазы ароматических L-аминокислот). Модулирует поведение и двигательную активность животных, устраняя или уменьшая напряжённость мышц, скованность движений, дрожание рук, головы и признаки паркинсонизма. Патогенез этих состояний связан с прогрессирующей дегенерацией нигростриарных нейронов, снижением в них активности тирозингидроксилазы и L-дигидрооксифенилаланин (ДОФА)-декарбоксилазы, в результате чего снижается эффективность тормозных дофами-



**Рис. 5.** Параметры ЭГМ и НЭМ в области Pr через 2 ч после введения амфетамина. Все обозначения — как на рис. 2.

**Fig. 5.** BE and NBE parameters in the Pr brain area 2 h after the administration of amphetamine. For all designations, refer to Fig. 2.

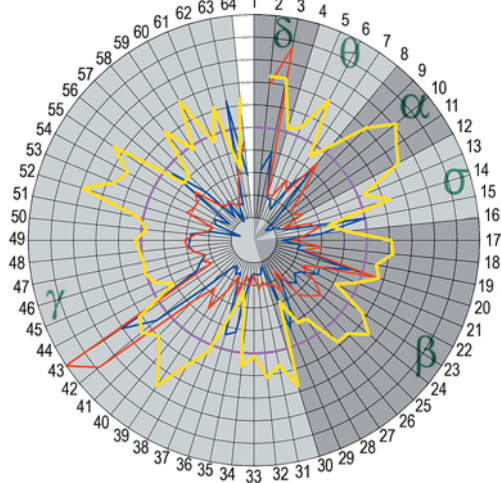
нергических воздействий (из-за дефицита дофамина) и одновременно возрастает активность холинергических и глутаматергических воздействий [12, 17, 21]. Важно отметить, что ДОФА как ключевой субстрат для образования дофамина, норадреналина и адреналина обладает чрезвычайно важным свойством: в отличие от них, ДОФА проникает через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) из крови к нейронам мозга, что позволяет нейронам мозга использовать его для синтеза катехоламинов. По этой причине L-ДОФА используют при лечении заболеваний, связанных с дефицитом дофамина, в т. ч. болезни Паркинсона [10, 32]. В больших дозах наком способен вызывать существенные изменения со стороны ЦНС и периферической нервной системы — дискинезии, включая непроизвольные движения (в т. ч. хорееподобные, дистонические), злокачественный нейролептический синдром, эпизоды брадикинезии, парестезию, эпизоды психотических состояний, включая иллюзии, бред, галлюцинаторные



**Рис. 6.** Параметры ЭГМ и НЭМ в области GSSA через 2 ч после введения амфетамина. Все обозначения — как на рис. 2.

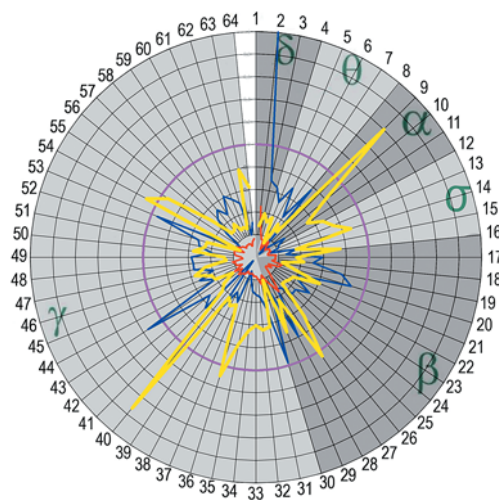
**Fig. 6.** BE and NBE parameters in the GSSA brain area 2 h after the administration of amphetamine. For all designations, refer to Fig. 2.

переживания и параноидное мышление, компульсивные расстройства, депрессию



**Рис. 7.** Параметры ЭГМ и НЭМ в области HIP через 2 ч после введения амфетамина. Все обозначения — как на рис. 2.

**Fig. 7.** BE and NBE parameters in the HIP brain area 2 h after the administration of amphetamine. For all designations, refer to Fig. 2.



**Рис. 8.** Параметры ЭГМ и НЭМ в области Pr через 1 ч после введения накома. Все обозначения — как на рис. 2.

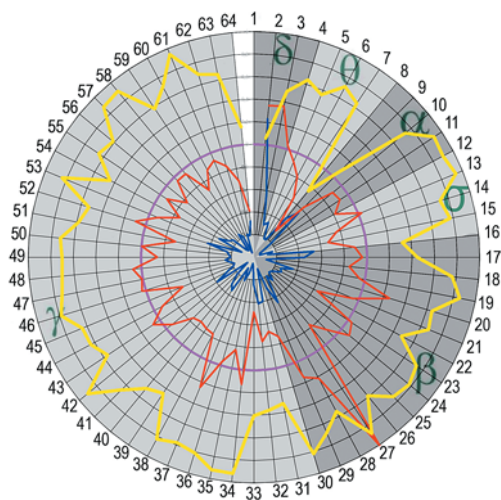
**Fig. 8.** BE and NBE parameters in the Pr brain area 1 h after the administration of nakom. For all designations, refer to Fig. 2.

с развитием суицидальных намерений, депрессию, нарушения сна, возбуждение, гиперсексуальность, спутанность сознания, судороги.

Приблизительно через 1 ч после введения тестируемого препарата на ЭГ в области передней супрасильвиевой извилины и гиппокампа наблюдается его пиковое действие в виде тотальной активации ритмов более чем на 200%. Данные эффекты сохраняются на протяжении 5–6 ч. При этом наиболее значимы они в высокочастотных  $\beta$ - и  $\gamma$ -диапазонах (около 20–25, 40–45 и 55–60 Гц).

В области прореальной извилины прослеживается обратный эффект — преимущественное угнетение с элементами активации в  $\alpha$ - (на 150%), также в высокочастотных  $\beta$ - и  $\gamma$ -диапазонах (около 25–40 и 55–60 Гц), на 40–150%.

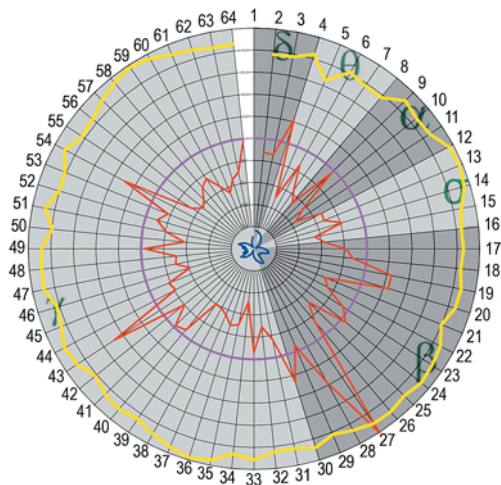
Через 8 ч во всех анализируемых областях наблюдаются эффекты, характерные для первых 30-ти мин и отражающие общую депримиацию.



**Рис. 9.** Параметры ЭГМ и НЭМ в области GSSA через 1 ч после введения накома. Все обозначения — как на рис. 2.

**Fig. 9.** BE and NBE parameters in the GSSA brain area 1 h after the administration of nakom. For all designations, refer to Fig. 2.

Таким образом, действие L-ДОФА (накома), хорошо проникающего через ГЭБ, про-



**Рис. 10.** Параметры ЭГМ и НЭМ в области HIP через 1 ч после введения накома. Все обозначения — как на рис. 2.

**Fig. 10.** BE and NBE parameters in the HIP brain area 1 h after the administration of nakom. For all designations, refer to Fig. 2.

является в течение нескольких часов после введения. Полученные данные согласуются с известными фармакокинетическими свойствами, а длительные остаточные эффекты отражают необходимость коррекции курсового приёма препарата.

## Заключение

Работа проведена на кошках со стереотаксически имплантированными в разные отделы мозга электродами. Особое внимание отведено изучению влияния тестируемых средств на кору головного мозга, а именно на фронтальный мозг (прореальную извилину, переднюю супрасильвиеву извилину) и гиппокамп.

Фармакологическая модуляция психопатологических процессов у животных является важным, наиболее удобным и физиологичным методом познания, определяющим возможность корреляции со схожими процессами у человека и экстраполяции полученных данных, однако для моделирования используются, как правило, токсичные вещества, что не позволяет вычленять и оптимально оценивать эффекты сложных психических (обсессивно-компульсивных и когнитивных) расстройств, проявляющихся в нарушении интрацентральных отношений головного мозга и ярко отражающихся в высокочастотных ритмах ЭГ, преимущественно относящихся к  $\gamma$ -диапазону. Эти патологические состояния (биомодели болезни Паркинсона, Альцгеймера и др.) были изучены в основном на полосках изолированного мозга [14, 23, 24, 34], но анализировать их возможно и на целостном, функционирующем мозге, что впервые установлено в наших исследованиях [4–7, 11].

Ранее в работах Н.Н. Каркищенко было установлено, что новые фармакомодулирующие методы и подходы, построенные на принципах нормирования БПФ-преобразуемых функций электрограмм головного мозга (НЭМ), позволяют выявлять характер взаимовлияний областей

мозга, формирующих интрацентральные отношения, когнитивные функции и фундаментальные механизмы высшей нервной деятельности животных и человека [1–4].

Выбор средств фармакологической модуляции определялся, несмотря на клинко-терапевтические различия, общностью некоторых, интересных для нас, механизмов действия. Во-первых, амфетамин, кетамин и наком участвуют в реализации эффектов или обороте дофамина и катехоламинов в целом. Во-вторых, они влияют на психоэмоциональную сферу через вовлечение гипоталамуса и разных уровней лимбической системы. В-третьих, они вызывают галлюцинаторно-бредовые переживания (особенно в сверхтерапевтических дозах), обсессивные и компульсивные действия, возбуждение и нарушение механизмов сна, агитацию. В-четвёртых, они энергично вмешиваются в механизмы когнитивно-поведенческих процессов и вызывают их расстройство. В-пятых, все они заняли, в силу своих психоделических свойств и эйфоризирующего действия, неблагоприятное место в качестве «клубных наркотиков». Подобные параллели можно было бы продолжать и продолжать, но мы специально дали достаточно обширные описания психофармакологических и фармакодинамических свойств кетамина, амфетамина и накома, чтобы читатель мог продолжить эти параллели самостоятельно.

В настоящей работе показано, что изменения параметров НЭМ, наблюдаемые при воздействии психоактивных средств — кетамина, накома и амфетамина, информативно и убедительно отражают активность анализируемых участков мозга. Сходства и различия нейрохимических механизмов и клинко-фармакологических аспектов обеспечивают влияние исследуемых препаратов на активность преимущественно высокочастотных  $\beta$ - и  $\gamma$ -ритмов, отражающих эффекты вставочных нейронов [14, 23, 24, 34] корковых структур головного мозга.



Они стабильно прослеживаются на ЭГМ, отличаясь однонаправленностью действия в течение всего периода влияния, совпадающего с данными фармакодинамики и фармакокинетики.

При введении кетамина в области прореальной извилины отмечается тотальное угнетение НЭМ на всём частотном диапазоне более чем на 100% с эпизодами активации на частоте около 15 Гц (относящейся к  $\sigma$ -диапазону, т. н. «сонные веретёна») и 35 Гц ( $\gamma$ -диапазона). В области передней супрасильвиевой извилины и гиппокампа — тотальная активация НЭМ. Данные эффекты достигают пиковых значений через 10–20 мин после введения ( $C_{\max}$  = 93% дозы, около 0,9 мг/кг) и сохраняются на протяжении 1–1,5 ч, что согласуется с фармакокинетическими параметрами кетамина как наркотизирующего средства.

При введении накома в области прореальной извилины отмечается преимущественное угнетение НЭМ на всём частотном диапазоне с эпизодами активации на частотах около 9, 27, 36, 40 и 54 Гц. В области передней супрасильвиевой извилины — активация НЭМ с эпизодами угнетения на частоте около 9 Гц. В области гиппокампа — тотальная активация НЭМ более чем на 200%. Наблюдаемые эффекты согласуются с фармакокинетическими показателями, т. к. достигают пиковых значений примерно через 1 ч ( $T_{\max}$  леводопы = 1–1,5 ч,  $T_{1/2}$  в плазме — около 50 мин), сохраняются на протяжении 5–6 ч и завершаются через 7–8 ч после введения, что, по-видимому, связано с элиминацией препарата.

При введении амфетамина в области прореальной извилины параметры НЭМ свидетельствуют о схожем с исходными значениями уровне активности мозга, при этом регистрируются эпизоды активации на частотах около 11, 20, 32 и 53 Гц. В области передней супрасильвиевой извилины — активация НЭМ с эпизодами угнетения на частотах около 16, 57 и 63 Гц. В области гип-

покампа параметры НЭМ свидетельствуют о схожем с исходными значениями уровне активности мозга, при этом регистрируются эпизоды активации на частотах около 10, 30, 39 и 52 Гц. Указанные эффекты детектируются уже через несколько минут после введения, достигают пиковых значений через 1,5–2 ч ( $C_{\max}$  в плазме — около 6 мкг/л), ослабевая через 6–8 ч, что согласуется с фармакокинетическими показателями.

Применение кетамина и амфетамина как средств, обладающих галлюциногенным действием, имеет свои сходства и различия: в области прореальной извилины кетамин оказывает более выраженное депримирующее влияние, при этом отмечаются близкие с амфетамином эффекты в частотных диапазонах около 11–15 и 32–35 Гц; в области передней супрасильвиевой извилины и гиппокампа кетамин оказывает более выраженное активирующее влияние.

Применение накома показало схожие с кетамином эффекты в области прореальной извилины, наиболее отчётливо проявляющиеся на частотах около 9–15 и 35–36 Гц, при этом наком характеризуется эпизодами активации и в более высокочастотном диапазоне 40–55 Гц. В области передней супрасильвиевой извилины эффекты накома также схожи с обнаруженными при действии кетамина, но имеют отличия на частоте около 10 Гц, при этом от эффектов амфетамина его отличает отсутствие эпизодов депрессии в высокочастотном диапазоне 55–65 Гц. В области гиппокампа наком превосходит кетамин по активирующему действию на 100–150%.

Выявленные сходства и различия параметров исследуемых областей в сопряжении с другими структурами мозга могут свидетельствовать об уникальном механизме нейровизуализации эффектов препаратов на основе нормирования электрограмм головного мозга при системном анализе в условиях *in vivo*. Визуализируя наблюда-

емые состояния с помощью средств фото- и видеофиксации, мы подтверждаем их взаимосвязь с нормированными параметрами электрограмм мозга. В частности, блокада прореальной извилины свидетельствует о растормаживающих психомоторные функции эффектах исследованных средств.

Сопоставляемость результатов с известными фармакодинамическими и фармако-

кинетическими параметрами тестируемых средств, а также воспроизведение психопатологий позволяют создавать новые эффективные средства воздействия и коррекции, анализировать адекватность их клинического применения, исключая использование в немедицинских целях, расширять и дополнять методологию биомедицинских и доклинических исследований.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Каркищенко В.Н., Каркищенко Н.Н., Шустов Е.Б. *Фармакологические основы терапии. Тезаурус: Рук-во для врачей и студентов*. 3-е изд. — новая ред. М., СПб.: Айсинг, 2018. 288 с. [Karkischenko V.N., Karkischenko N.N., Shustov E.B. *Farmakologicheskie osnovy terapii. Tezaurus: Ruk-vo dlya vrachej i studentov* [Pharmacological basis of therapy. Thesaurus: Manual for doctors and students]. 3rd ed. — new ed. Moscow, Saint Petersburg: Ajsing Publ., 2018. 288 p. (In Russian)].
2. Каркищенко Н.Н. *Альтернативы биомедицины. Т. 2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии*. М.: Изд-во ВПМК, 2007. 448 с. [Karkischenko N.N. *Al'ternativy biomeditsiny. T. 2. Klassika i al'ternativy farmakotoksikologii* [Alternatives to biomedicine. Vol. 2. Classics and alternatives to pharmacotoxicology]. Moscow: VPK Publ., 2007. 448 p. (In Russian)].
3. Каркищенко Н.Н. *Психонитропизм лекарственных средств*. М.: Медицина, 1993. 208 с. [Karkischenko N.N. *Psihounitropizm lekarstvennyh sredstv* [Psychunitropism of medicines]. Moscow: Medicina Publ., 1993. 208 p. (In Russian)].
4. Каркищенко Н.Н. *Фармакология системной деятельности мозга*. Ростов: Ростиздат, 1975. 152 с. [Karkischenko N.N. *Farmakologiya sistemoj deyatelnosti mozga* [Pharmacology of systemic activity of the brain]. Rostov: Rostizdat Publ., 1975. 152 p. (In Russian)].
5. Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Харитонов С.Ю. Нейровизуализация эффектов психоактивных средств посредством нормализации электрограмм головного мозга. *Биомедицина*. 2019;15(1):12–34. [Karkischenko N.N., Karkischenko V.N., Fokin Yu.V., Kharitonov S.Yu. *Nejrovizualizaciya effektov psihoaktivnyh sredstv posredstvom normalizacii elektrogramm golovno mozga* [Neuroimaging of the Effects of Psychoactive Substances by Means of Normalization of Brain Electrograms]. *Biomedicine*. 2019;15(1):12–34. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-15-1-12-34.
6. Каркищенко Н.Н., Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н., Таболякова Л.А., Мокроусов М.И., Алимкина О.В. Конвергентная валидация интрацентральных отношений головного мозга животных. *Биомедицина*. 2017;3:16–39. [Karkischenko N.N., Fokin Yu.V., Karkischenko V.N., Taboyakova L.A., Mokrousov M.I., Alimkina O.V. *Konvergentnaya validaciya intratsentral'nyh odnoshenij golovno mozga zhivotnyh* [Convergent validation of intracentral relationships of the brain of animals]. *Biomedicine*. 2017;3:16–39. (In Russian)].
7. Каркищенко Н.Н., Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н., Таболякова Л.А., Харитонов С.Ю., Алимкина О.В. Новые подходы к оценке интрацентральных отношений по показателям оперантного поведения и электрограмм мозга кошек. *Биомедицина*. 2018;4:4–17. [Karkischenko N.N., Fokin Yu.V., Karkischenko V.N., Taboyakova L.A., Kharitonov S.Yu., Alimkina O.V. *Novye podhody k ocenke intratsentral'nyh odnoshenij po pokazatelyam operantnogo povedeniya i ehlektrogramm mozga koshek* [New approaches to the assessment of intracentral relations in terms of operant behavior and electrograms of the cats brain]. *Biomedicine*. 2018;4:4–17. (In Russian)].
8. Райкрофт Ч. *Критический словарь психоанализа* / Пер. с англ. С.В. Воронина, И.Н. Гвоздева. СПб.: Восточно-Европейский институт психоанализа, 1995. 250 с. [Rajcroft Ch. *Kriticheskij slovar' psihoanaliza* [Critical Dictionary of Psychoanalysis]. Transl. from English by S.V. Voronin, I.N. Gvozdev. Saint Petersburg: Vostochno-Evropejskij institut psihoanaliza Publ., 1995. 250 p. (In Russian)].
9. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях* / Под ред. Н.Н. Каркищенко и др. М.: Профиль-2С, 2010. 358 с. [Rukovodstvo po laboratornym zhivotnym i al'ternativnym modelyam v biomeditsinskix issledovaniyax [Manual on laboratory animals and alternative models in biomedical research]. Ed. by N.N. Karkischenko, et al. Moscow: Profil'-2S Publ., 2010. 358 p. (In Russian)].
10. Федорова Н.В. Лечение болезни Паркинсона. *Русский медицинский журнал*. 2001; Спецвыпуск:24–33. [Fedorova N.V. *Lechenie bolezni Parkinsona* [Parkinson's disease treatment]. *Russian Medical Journal*. 2001; Special issue:24–33. (In Russian)].



11. Фокин Ю.В. Сравнительная оценка влияния психоактивных средств на гиппокампальные тета- и гамма-ритмы. *Биомедицина*. 2019;15(3):23–32. [Fokin Yu.V. Sravnitel'naya ocenka vliyaniya psihoaktivnykh sredstv na gippokampal'nye teta- i gamma-ritmy] [Comparative evaluation of the influence of psychoactive medicines on hippocampal teta and gamma rhythms]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2019;15(3):23–32. (In Russian). DOI: 10.33647/2074-5982-15-3-23-32.
12. Циркин В.И., Трухина С.И. *Физиологические основы психической деятельности и поведения человека*. М.: Мед. книга, 2001. 524 с. [Tsirkin V.I., Truhina S.I. *Fiziologicheskie osnovy psicheskoy deyatel'nosti i povedeniya cheloveka* [The physiological basis of mental activity and human behavior]. Moscow: Med. kniga Publ., 2001. 524 p. (In Russian)].
13. Bradshaw J.W.S., Neville P.F., Sawyer D. Factors affecting pica in the domestic cat. *Applied Animal Behaviour Science*. 1997;52(3–4):373–379. DOI: 10.1016/S0168-1591(96)01136-7.
14. Bragin A., Jandó G., Nádasdy Z., Hetke J., Wise K., Buzsáki G. Gamma (40–100 Hz) oscillation in the hippocampus of the behaving rat. *J. Neurosci*. 1995;15(1, Pt 1):47–60.
15. Brimberg L., Flaisher-Grinberg S., Schilman E.A., Joel D. Strain differences in 'compulsive' leverpressing. *Behav. Brain Res*. 2007;179(1):141–151. DOI: 10.1016/j.bbr.2007.01.014. PMID 17320982.
16. Brüne M. The evolutionary psychology of obsessive-compulsive disorder: the role of cognitive metarepresentation. *Perspect Biol. Med*. 2006;49(3):317–329. DOI: 10.1353/pbm.2006.0037. PMID 16960303.
17. Citri A., Malenka R. Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology*. 2008;33(1):18–41.
18. Dvorkin A., Perreault M.L., Szechtman H. Development and temporal organization of compulsive checking induced by repeated injections of the dopamine agonist quinpirole in an animal model of obsessive-compulsive disorder. *Behav. Brain Res*. 2006;169(2):303–311. DOI: 10.1016/j.bbr.2006.01.024.
19. Garner J.P., et al. Genetic, environmental and neighbor effects on severity of stereotypies and feather picking in Orange-winged Amazon parrots (*Amazona amazonica*): An epidemiological study. *Applied Animal Behaviour Science*. 2006;96: 153–168. DOI: 10.1016/j.applanim.2005.09.009.
20. Graef A. *Can dogs lead us to a cure for obsessive-compulsive disorder? Care 2 Make a Difference*. 2013.
21. Hyman S., Malenka R., Nestler E. Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Ann. Rev. Neurosci*. 2006;29:565–598.
22. Kalueff A.V., Tuohimaa P. Experimental modeling of anxiety and depression. *Acta Neurobiol. Exp*. 2004;64(4):439–448. PMID 15586660.
23. Kann O. The interneuron energy hypothesis: Implications for brain disease. *Neurobiol. Dis*. 2016;90:75–85. DOI: 10.1016/j.nbd.2015.08.005.
24. Kann O., Huchzermeyer C., Kovács R., Wirtz S., Schuelke M. Gamma oscillations in the hippocampus require high complex I gene expression and strong functional performance of mitochondria. *Brain*. 2011;134(Pt 2):345–358. DOI: 10.1093/brain/awq333.
25. Miller J.A. Look who's clucking! *Bioscience*. 1992;42(4):257–259. JSTOR 1311673.
26. Nesse R.M. Is depression an adaptation? *Arch Gen Psychiatry*. 2000;57(1):14–20. DOI: 10.1001/archpsyc.57.1.14.
27. Nilsson L.-G., Markowitsch H.J. *Cognitive Neuroscience of Memory*. Seattle: Hogrefe & Huber Publ., 1999. 57 p.
28. Overall K.L., Dunham A.E. Clinical features and outcome in dogs and cats with obsessive-compulsive disorder: 126 cases (1989–2000). *J. Am. Vet. Med. Assoc*. 2002;221(10):1445–1452. DOI: 10.2460/javma.2002.221.1445.
29. *Pharma Business Week*. Canine compulsive disorder gene identified in dogs. 2010. 118 p.
30. Polunina A.G., Davydov D.M. EEG correlates of Wechsler Adult Intelligence Scale. *Int. J. Neurosci*. 2006;116(10):1231–1248.
31. Sershen H., Hashim A., Lajtha A. Gender differences in kappa-opioid modulation of cocaine-induced behavior and NMDA-evoked dopamine release. *Brain Res*. 1998;801(1–2):67–71.
32. Shih J., Chen K., Ridd M. Role of MAO A and B in neurotransmitter metabolism and behavior. *Pol. J. Pharmacol*. 1999;51(1):25–29.
33. Siegel S., Hinson R.E., Krank M.D. The role of pre-drug signals in morphine analgesic tolerance: support for a Pavlovian conditioning model of tolerance. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process*. 1978;4(2):188–196. DOI: 10.1037/0097-7403.4.2.188.
34. Tort A.B., Kramer M.A., Thorn C., Gibson D.J., Kubota Y., Graybiel A.M., et al. Dynamic crossfrequency couplings of local field potential oscillations in rat striatum and hippocampus during performance of a T-maze task. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2008;105(51):20517–20522. DOI: 10.1073/pnas.0810524105.
35. Vermeire S., Audenaert K., De Meester R., Vandermeulen E., Waelbers T., De Spiegeleer B., et al. Serotonin 2A receptor, serotonin transporter and dopamine transporter alterations in dogs with compulsive behaviour as a promising model for human obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Res*. 2012;201(1):78–87. DOI: 10.1016/j.psychres.2011.06.006.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Каркищенко Николай Николаевич\***, д.м.н., проф., акад. РАН, чл.-корр. РАН, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;

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

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

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

**Фокин Юрий Владимирович**, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;

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

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

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

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

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

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

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

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ВЫДЕЛЕНИЯ, ЗАГОТОВКИ И КОНСЕРВАЦИИ МУСКУСА КАБАРГИ С ЦЕЛЬЮ СТАНДАРТИЗАЦИИ И ПОЛУЧЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ

С.Л. Люблинский<sup>1</sup>, И.Н. Люблинская<sup>2\*</sup>, В.П. Галочкина<sup>2</sup>, Е.М. Колоскова<sup>2</sup>,  
В.Н. Каркищенко<sup>1</sup>, М.С. Нестеров<sup>1</sup>, И.А. Берзин<sup>3</sup>, Р.А. Агельдинов<sup>1</sup>, Р.С. Чурюкин<sup>4</sup>

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

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

<sup>3</sup> Федеральное медико-биологическое агентство  
123182, Российская Федерация, Москва, Волоколамское ш., д. 30

<sup>4</sup> ООО «Теклеор»  
249010, Российская Федерация, Калужская обл., Боровский р-н, д. Старомихайловское,  
ул. 1-я Индустриальная, владение 4

Разработка новых методов консервации биологического сырья для получения активных фармацевтических субстанций продолжает оставаться актуальной. Получены сравнительные экспериментальные данные об эффективности консервации биологических объектов с помощью криоконсервации, лактопероксидазной системы и электронно-лучевой обработки. Показано выраженное антимикробное действие обработки мускуса кабарги и другого биологического сырья электронно-лучевым излучением с различной поглощённой дозой (4, 6 и 8 кГр) без ухудшения органолептических и физико-химических свойств, не снижающее при этом содержание основных биологически активных веществ (БАВ). Для консервации и гарантированного хранения мускуса в течение 1-го года рекомендован метод обработки электронно-лучевым излучением с поглощённой дозой 6 кГр (9,5 МэВ) с последующей криоконсервацией при  $-250^{\circ}\text{C}$ . При этом данные, полученные ускоренным методом тестирования, позволяют прогнозировать продление срока хранения до 48-ми мес. Впервые определены основные показатели качества и безопасности мускуса как сырья для производства активной фармацевтической субстанции и лекарственного животного сырья, разработан стандарт организации на мускус кабарги как сырьё, а также опытно-промышленный регламент на его заготовку и консервацию.

**Ключевые слова:** мускус, консервация, электронно-лучевое излучение, хранение

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

**Для цитирования:** Люблинский С.Л., Люблинская И.Н., Галочкина В.П., Колоскова Е.М., Каркищенко В.Н., Нестеров М.С., Берзин И.А., Агельдинов Р.А., Чурюкин Р.С. Совершенствование технологии выделения, заготовки и консервации мускуса кабарги с целью стандартизации и получения фармацевтической продукции. *Биомедицина*. 2020;16(1):28–41. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-28-41>

Поступила 01.10.2019

Принята после доработки 23.01.2020

Опубликована 10.03.2020

## IMPROVING THE TECHNOLOGY OF EXTRACTION, PREPARATION AND CONSERVATION OF MUSK DEER EXTRACT FOR THE STANDARDIZATION AND PRODUCTION OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCES

Stanislav L. Lyublinskiy<sup>1</sup>, Irina N. Lyublinskaya<sup>2,\*</sup>, Valentina P. Galochkina<sup>2</sup>,  
Elena M. Koloskova<sup>2</sup>, Vladislav N. Karkischenko<sup>1</sup>, Maxim S. Nesterov<sup>1</sup>, Igor A. Berzin<sup>3</sup>,  
Ruslan A. Ageldinov<sup>1</sup>, Roman S. Churyukin<sup>4</sup>

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

<sup>2</sup> Scientific-Production Firm "MOBITEK-M"  
249010, Russian Federation, Kaluga region, Borovsk, Institute village, 6

<sup>3</sup> Federal Medical and Biological Agency  
123182, Russian Federation, Moscow, Volokolamskoe highway, 30

<sup>4</sup> Tekleor  
249010, Russian Federation, Kaluga region, Borovsk district, Staromikhailovskoye village,  
1-ya Industrial'naya str., building 4

The development of new methods for the conservation of biological raw materials, which can be used in the production of active pharmaceutical substances, is increasingly attracting research attention. This article presents the results of comparative studies into the effectiveness of biological conservation using cryopreservation, electron beam treatment and the lactoperoxidase system. Electron beam technologies demonstrated a pronounced antimicrobial effect in the treatment of musk deer extract and other biologically active substances. A recommendation was formulated to treat musk extract with electron-beam radiation at an absorbed dose of 6 kGy (9.5 MeV) following cryopreservation at  $-25^{\circ}\text{C}$  over the period of 1 year. The data obtained using the method of accelerated testing allows an extended shelf life of up to 48 months to be predicted.

For the first time, the main indicators of the quality and safety of musk deer extract as a potential raw material for the production of active pharmaceutical substances and medicinal animal raw materials were determined. A standard for the quality of musk deer extract as a raw material, as well as an experimental-industrial regulation for its preparation and preservation, were developed.

**Keywords:** musk, conservation, electron beam radiation, storage

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

**For citation:** Lyublinskiy S.L., Lyublinskaya I.N., Galochkina V.P., Koloskova E.M., Karkischenko V.N., Nesterov M.S., Berzin I.A., Ageldinov R.A., Churyukin R.S. Improving the Technology of Extraction, Preparation and Conservation of Musk Deer Extract for the Standardization and Production of Pharmaceutical Substances. *Journal Biomed.* 2020;16(1):28–41. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-28-41>

Submitted 01.10.2019

Revised 23.01.2020

Published 10.03.2020

### Введение

В России разрешено к применению свыше пяти тысяч лекарств. Среди них постоянно расширяется группа препаратов, полученных из сырья микробияльного, растительного и животного происхождения.

Перспективным для дальнейшего использования в фармации является мускус — вещество, которое вырабатывается в мускусной железе самцов кабарги (обиходное название — струя), имеющее тысячелетнюю историю применения во многих стра-

нах мира [14]. БАВ, содержащиеся в этом сырье, обеспечивают широкий спектр фармацевтического воздействия, необходимый для лечения различных органов и систем организма человека [18]. При этом для сохранения фармакологических свойств лекарственного животного сырья (ЛЖС) огромное значение имеет способ его консервации и хранения.

Природное (органическое) сырьё является хорошей питательной средой для многих микроорганизмов, которые, развиваясь на нём, и вызывают порчу. Поэтому неправильные способы заготовки, перевозки, переработки, хранения и реализации этого сырья приводят к его порче и потерям [1].

Под порчей органического лекарственного сырья понимают необратимые изменения, происходящие в нём в процессе хранения, связанные с ухудшением качества и невозможностью дальнейшего использования для получения фармацевтически активных субстанций. Это происходит в результате биохимического распада основных компонентов, катализируемого как его собственными ферментными системами, так и ферментами контаминирующих его микроорганизмов [19].

Известно, что в ЛЖС при хранении могут происходить различные нежелательные изменения, связанные с действием биохимических, микробиологических и физико-химических процессов (рис. 1).

При этом каждый вид сырья при установленных режимах хранения имеет предельный срок хранения, определённый на основании данных химико-технологических и биологических исследований.

Из всех видов порчи ключевой является микробиологическая порча, поскольку она наиболее опасна для человека из-за выделяющихся токсинов и развития болезнетворной микробиоты (рис. 2).

В целом проблемы хранения биологического сырья можно свести к регулированию биохимических процессов, которые явля-

ются основой разного вида порчи. Изменяя условия среды и действуя на микроорганизмы различными внешними и внутренними физико-химическими или биологическими факторами (рис. 2), можно регулировать состав и деятельность микрофлоры, а также характер течения ферментативных процессов в сырье.

Применение низких температур для препятствия развития большинства микроорганизмов является наиболее известным и широко используемым в настоящее время методом консервации и хранения ЛЖС [15, 17]. Причем чем ниже температура, тем длительнее срок хранения сырья. Помимо физических изменений (перекристаллизации льда, потери массы, усушки), даже при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$  в сырье протекают биохимические и химические процессы, заключающиеся в гидролитических и окислительных изменениях липидов, гидролизе и денатурации белковых веществ. Необходимо отметить, что основная группа протеолитических ферментов сырья утрачивает активность при температуре ниже  $-20^{\circ}\text{C}$ , а липолитические ферменты — липазы, липооксидазы, фосфолипазы и др. — только ниже  $-30^{\circ}\text{C}$ .

Одним из перспективных методов их консервации является применение лактопероксидазной системы, состоящей из фермента — лактопероксидазы, перекиси водорода и ионов тиоционата [2]. Лактопероксидаза катализирует окисление бромид-, йодид- и тиоционат ионов перекисью водорода. Тиоционат ( $\text{OSCN}^-$ ) реагирует с некоторыми радикалами, которые производятся в процессе бактериального метаболизма, в результате чего мембраны бактериальной клетки повреждаются. В то же время тиоционаты не причиняют вреда клеткам организма человека, т.к. все млекопитающие имеют эффективные механизмы их утилизации. Эта система уничтожает грамотрицательные бактерии и ингибирует рост грамположительных.



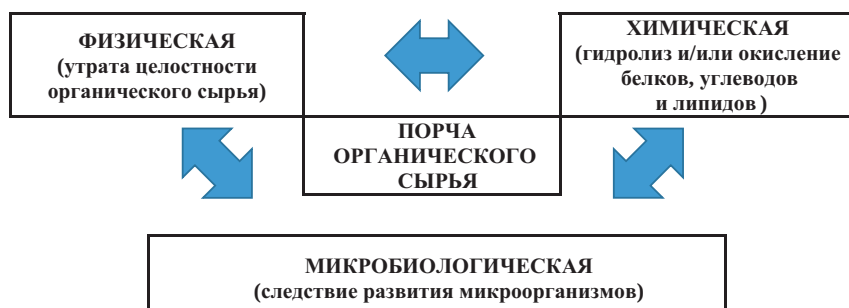


Рис. 1. Виды порчи природного сырья.

Fig. 1. Types of damage to natural raw materials.

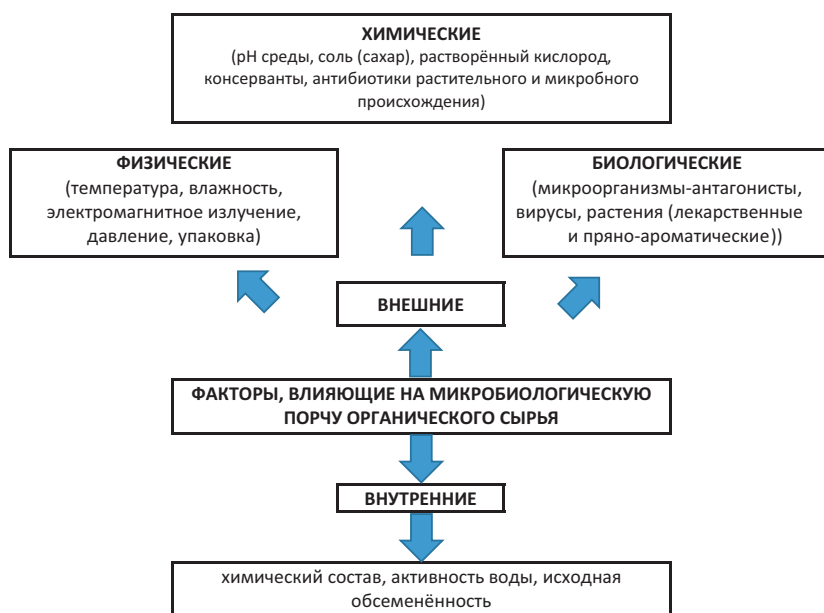


Рис. 2. Факторы, влияющие на микробиологическую порчу органического сырья.

Fig. 2. Factors affecting the microbiological spoilage of organic raw materials.

Обработка ионизирующим излучением (радуризация) представляет собой одну из наиболее перспективных современных технологий обеспечения безопасности и увеличения срока годности сырья [6, 10, 11].

В 1980 году Объединённым комитетом экспертов ФАО/ВОЗ и МАГАТЭ принято решение о возможности облучения пищевых продуктов и сырья дозами до 10 кГр. Практический опыт показывает, что сроки

хранения охлаждённой птицы, мяса и рыбы, обработанных  $\gamma$ -лучами, увеличиваются в несколько раз по сравнению с необлучёнными. Вместе с тем такая обработка может привести к деструкции биополимеров, появлению постороннего вкуса и/или запаха, повышению скорости окисления липидов и витаминов.

В последние годы развиваются технологии стерилизации с помощью электронно-лучевого (ЭЛ) или  $\beta$ -излучения. ЭЛ-способ

использует электроны с высокой энергией (до 10 МэВ). Электроны и образующиеся под их воздействием продукты радиолиза разрывают ДНК- и РНК-цепочки микроорганизмов как на внутренней поверхности упаковки, так и внутри продукта, блокируя таким образом их дальнейшее размножение. Патогенные микробы гибнут, вследствие чего происходит стерилизация продукта.

Метод обладает рядом технологических преимуществ: высокой степенью инактивации микроорганизмов, возможностью стерилизации больших партий, автоматизации и стабильности процесса, стерилизации продукта в любой герметичной упаковке. Важным преимуществом является то, что температура стерилизуемого сырья не повышается.

ЭЛ-излучение не предполагает глубинного проникновения в толщу продукта, как это делает  $\gamma$ -излучение. В зависимости от плотности продукции ЭЛ-излучение проникает на глубину до 40 см от поверхности. Действие ЭЛ-излучения ограничивается несколькими секундами, в отличие от многочасового воздействия на продукт  $\gamma$ -излучением, что снижает возможные побочные эффекты, сводя к минимуму нарушения в структуре как продукта, так и упаковочного материала.

Стоимость стерилизации ионизирующим излучением в 4–5 раз ниже, чем стоимость стерилизации термическим или газовым способом.

Органы и ткани животных, которые используются для производства лекарственных средств, могут быть обсеменены эндогенно, ещё при жизни животного, и экзогенно — после его убоя. Это бактериальное обсеменение называют первичным количественным содержанием бактерий [9].

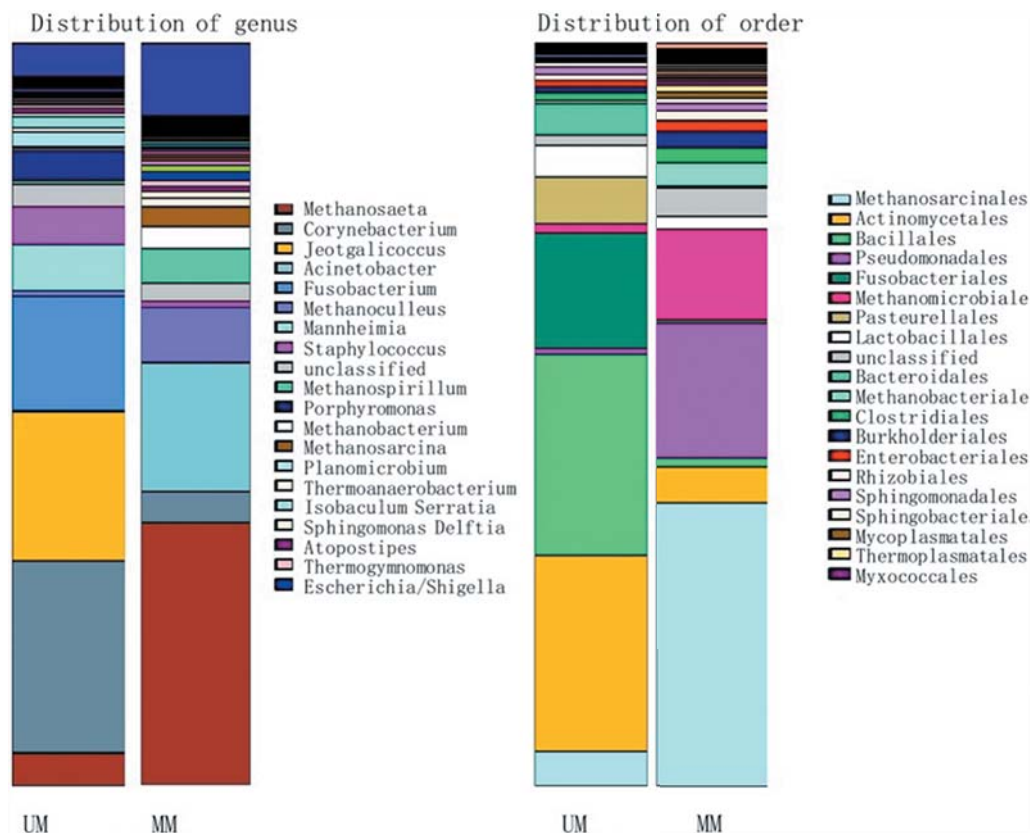
Вторичным содержанием бактерий обозначают то количество микроорганизмов, которое образуется сразу после убоя животного во время технологических операций и заносится на поверхность сырья

из загрязнённого кожного покрова животного, его пищеварительного тракта, а также из окружающей среды — с инструментов, рук, одежды людей при первичной разделке, хранении и транспортировке.

По качественному составу микробиота животного сырья может включать сапрофитные, патогенные и условно-патогенные, преимущественно аэробные и факультативно-анаэробные бактерии, бактерии группы кишечной палочки (БГКП), родов *Proteus*, *Aeromonas*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*. Их количество может достигать  $10^3$ – $10^5$  клеток на 1 см<sup>2</sup> поверхности. Многие микроорганизмы длительно сохраняются в сырье при замораживании. Например, сальмонеллы сохраняют жизнеспособность в замороженном мясе 13 мес., в яйцах — 12 мес. Животное сырьё может содержать также различные вирусы.

Большое значение при выборе методов консервации мускуса имеет его исходный микробиологический состав, представляющий собой сложнейшую симбиотическую систему множества различных микроорганизмов, участвующих в синтезе огромного количества биологически активных соединений, обеспечивающих защитные, репродуктивные и коммуникативные биологические функции препуциальной железы, а также фармакологические свойства мускуса. Предварительные исследования [20] показали, что в его составе встречаются представители многих семейств, десятков родов и сотен видов бактерий, грибов, плесеней и т.д. (рис. 3). Столбцы на рис. 3 представляют относительную распространённость 20-ти наиболее часто встречающихся в мускусе бактериальных таксонов (родов и порядков).

Жизненный цикл получения лекарственных препаратов из животного сырья [5] состоит из 5-ти стадий: выращивания животного, стадии забоя и транспортировки, стадии хранения, поступления сырья на фармацевтическое предприятие и стадии получения ак-



**Рис. 3.** Анализ изменения состава микробиоты у неполовозрелых (UM) и половозрелых (MM) самцов кабарги с использованием 16S рРНК в виде биомаркеров.

**Fig. 3.** Analysis of changes in the composition of microbiota in immature (UM) and sexually mature (MM) male musk deer using 16S rRNA in the form of biomarkers.

тивной фармацевтической субстанции (АФС) и готовой лекарственной формы.

В ГОСТ Р 52259-2009 [8] указаны обязательные стадии производства АФС, на которые распространяются требования этого стандарта. В нем рекомендуется усиление требований GMP для производства АФС, получаемых из ЛЖС, к которым относится в т.ч. и мускус кабарги, на конечных трёх стадиях производства. Однако для получения гарантированного качества конечной АФС на основе мускуса необходимо расширение действия стандарта также на начальную стадию — «Измельчение, смешивание и/или первоначальная обработка». Это обуславливает важность внедрения современ-

ных высокоэффективных и безвредных методов консервации такого редкого и ценного сырья, каковым является мускус кабарги.

Традиционный способ заготовки мускуса кабарги — медленное высушивание всей мускусной железы или извлечённого из неё мускуса [12]. Недостатками этого способа являются длительность и неполное высушивание, микробальное загрязнение и, как следствие, частичная порча (30% и более массы кабарговой струи) [3, 13]. Очевидно, что для получения стандартизованных и высокоэффективных препаратов из этого сырья необходимо отработать стандартные методы консервирования мускуса, в т.ч. в условиях стационарных заго-

товительных пунктов, оснащенных низкотемпературными морозильными камерами.

Разведение кабарги в питомниках и прижизненный отбор мускуса открывает новые возможности для заготовки мускуса кабарги с максимальным сохранением его биологической активности и дальнейшего использования, в т. ч. для получения лекарственных препаратов.

**Цель** настоящего исследования заключалась в изучении современных инновационных методов консервации и их влияния на показатели качества и безопасности, а также состав и содержание наиболее значимых групп БАВ в мускусе кабарги.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- проведение сравнительного анализа существующих методов консервации и хранения органического сырья, в т. ч. ЛЖС;
- определение основных показателей качества и безопасности мускуса для разработки и регистрации нормативно-технической документации на это сырьё;
- оценка влияния современных методов консервации и хранения на основные показатели качества и безопасности мускуса.

### Разработка нормативной базы для ЛЖС мускуса

Сегодня в РФ отсутствует нормативная база (ГОСТ, ОСТ, ТУ и т. д.) на мускус кабарги в качестве исходного сырья для последующей промышленной переработки. В связи с этим существует необходимость регламентирования требований к качеству и безопасности данного сырья с целью разработки и последующей регистрации нормативно-технической документации на него. Наличие контролируемых санитарно-гигиенических показателей является также важнейшим условием для изучения методов консервации и хранения мускуса.

Согласно ГОСТ Р 52428 мускус кабарги можно отнести к эндокринно-ферментно-

му сырью [7]. Показатели качества и безопасности сырья на основе мускуса регламентируются требованиями Технического регламента Таможенного союза (ТР ТС) 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» и ТР ТС 03/2013 «О безопасности мяса и мясной продукции».

Согласно требованиям ТР ТС, а также результатам предварительных исследований предложены следующие показатели качества и безопасности мускуса кабарги как сырья.

По органолептическим показателям мускус должен представлять собой крупнодисперсный влажный порошок тёмно-коричневого цвета со своеобразным вкусом с лёгкой горечью и специфическим, ярко выраженным запахом мускуса.

Массовая доля влаги в мускусе составляет  $55 \pm 10\%$ , золы —  $4 \pm 2\%$ , рН 1% р-ра —  $7,0 \pm 1,0$ ; температура внутри продукта при хранении — минус  $25 \pm 5$  °С. Посторонние примеси органического (иглолочки, веточки, листья) и неорганического (песчинки и т. п.) происхождения не допускаются. По содержанию токсичных элементов, пестицидов, радионуклидов и микробиологическим показателям (табл. 1) сырьё должно соответствовать требованиям ТР ТС 021/2011.

На основании действующих правил и норм, а также требований ТР ТС 021/2011 и ТР ТС 03/2013 в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России впервые разработан и зарегистрирован стандарт организации (СТО) 58709973-001-2019 «Мускус кабарги (сырьё)», а также проведена сертификация мускуса в системе Международного банка веществ и технологий.

### Материалы и методы

Были проведены комплексные исследования согласно МУК 4.2.1847-04 «Санитарно-эпидемиологическая оценка обоснования сроков годности и условий хранения пищевых продуктов» по изучению влияния

**Таблица 1.** Микробиологические показатели мускуса

**Table 1.** Microbiological indicators of musk

| Показатель                                                                                            | Значения показателя |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), КОЕ/г, не более | $1 \times 10^4$     |
| БГКП (колиформы), в 0,1 г                                                                             | Не допускаются      |
| Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы, в 0,1 г                                                | Не допускаются      |
| <i>E. coli</i> , в 1 г                                                                                | Не допускаются      |
| <i>S. aureus</i> , в 1 г                                                                              | Не допускается      |

различных способов консервации на показатели качества и микробиологической безопасности, а также на сохранность отдельных групп БАВ в мускусе кабарги в процессе хранения.

### Материалы исследований

Перед началом эксперимента предварительно извлечённый из мешочков (струи) мускус взвешивали и упаковывали по 5 г в пакеты из многослойных полимерных материалов. Эта упаковка позволяет предохранять продукт от вторичной контаминации микрофлоры и окисления.

Для изучения каждого из способов консервации брали по 10 образцов.

### Методы исследований

Изучались традиционный, наиболее применяемый на сегодня для консервации биологического сырья способ — замораживание, а также современные методы консервации сырья при помощи лактопероксидазной системы и обработки  $\beta$ -излучением с последующей криоконсервацией. В первом случае образцы сразу же замораживались при температуре  $-25^\circ\text{C}$ . Во втором случае образцы обрабатывались из расчёта 1 и 5 г консерванта «Униконс «Гамма»» на 1 кг сырья (0,1 и 0,5%) в соответствии с рекомендациями производителя.

В третьем случае перед замораживанием производилась обработка образцов сырья ускоренными электронами с поглощенной дозой 4, 6 и 8 кГр (9,5 МэВ) в соответствии с ГОСТ ИСО 14470-2014 [10] в Центре антимикробной обработки растительного

и животного сырья ускоренными электронами «Tecleor» (Россия).

Для исследования показателей качества и безопасности обработанного сырья применялись соответствующие стандартные методы, утверждённые Роспотребнадзором России.

Определение общего белка (водорастворимой фракции) проводили по методу Бредфорда, определение холестерина и стероидов — на ГХ–МС анализаторе с масс-спектрометрическим детектором «Хроматэк», сопряженным с газовым хроматографом «Хроматэк-Кристалл 5000» и жидкостным дозатором ДАЖ-2 М (3 Д).

Для надежной идентификации использовали автоматическую базу поиска и идентификации данных хромато-масс-спектрометрии NIST17 MS Library.

### Результаты и их обсуждение

Изучение органолептических и физико-химических показателей в образцах мускуса, обработанного первым и третьим способами, через 1 мес. хранения значимых изменений не выявило.

Образцы, обработанные вторым способом, по истечении месяца хранения приобрели специфическую горечь, свидетельствующую о наличии перекисного окисления липидов, присутствующих в мускусе в большом количестве, что подтверждалось также снижением pH в этих образцах. Микробиологический анализ также показал, что обработка лактопероксидазной системой приводит к снижению числа микроорганизмов, но количество



**Таблица 2.** Микробиологические показатели мускуса при различных способах консервации после хранения в течение 1 мес. при  $-25^{\circ}\text{C}$

**Table 2.** Microbiological indicators of musk with various preservation methods after storage for 1 month at  $-25^{\circ}\text{C}$

| Способ консервации                                    | Микробиологические показатели ** |                |   |   |   |                   |
|-------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------|---|---|---|-------------------|
|                                                       | 1                                | 2              | 3 | 4 | 5 | 6                 |
| Норма*                                                | 1×10 <sup>4</sup>                | Не допускаются |   |   |   | Не норм.          |
| До обработки                                          | Сплошной рост                    |                |   |   |   |                   |
| Криоконсервация                                       | Сплошной рост                    |                |   |   |   |                   |
| Униконс 0,1 %                                         | 2,4×10 <sup>3</sup>              | Не выделены    |   |   |   | 3×10 <sup>2</sup> |
| 0,5 %                                                 | 2,5×10 <sup>3</sup>              | Не выделены    |   |   |   | 4×10 <sup>2</sup> |
| Обработка ЭЛ-излучением с поглощенной дозой:<br>4 кГр |                                  |                |   |   |   |                   |
|                                                       | <10                              | Не выделены    |   |   |   | <10               |
| 6 кГр                                                 | <10                              | Не выделены    |   |   |   | <10               |
| 8 кГр                                                 | <10                              | Не выделены    |   |   |   | <10               |

**Примечание:** \* — по СТО 58709973-001-2019 «Мускус кабарги (сырьё)», \*\* — КМАФАнМ, КОЕ/г, не более; 2 — БГКП, в 0,1 г; 3 — патогенные микроорганизмы, в т. ч. сальмонеллы; 4 — *E. coli*, в 1 г; 5 — *S. aureus*, в 1 г; 6 — дрожжи и плесени.

**Note:** \* — according to STO 58709973-001-2019 “Musk of musk deer (raw material)”; \*\* — КМАФАнМ, CFU/g, not more; 2 — BGKP, 0.1 g; 3 — pathogenic microorganisms, including salmonella; 4 — *E. coli*, 1 g; 5 — *S. aureus*, 1 g; 6 — yeast and mold.

дрожжей и плесеней остаётся значительно выше безопасной нормы (табл. 2). Поэтому в дальнейших экспериментах этот консервант не использовался.

Дальнейшие исследования образцов выявили, что органолептические и физико-химические показатели через 3 и 6 мес. после обработки  $\beta$ -излучением и хранения при  $-25^{\circ}\text{C}$  не изменились.

После 6-ти мес. хранения с помощью криоконсервации сохранялась исходная контаминация мускуса. Эффективной оказалась обработка мускуса ЭЛ-излучением: общая обсеменённость образцов по сравнению с исходным сырьём уменьшилась до менее 10 КОЕ/г, что соответствует показателю для парного мяса.

Учитывая состав мускуса, для моделирования эффективности его стерилизации дополнительно были проведены исследования ЭЛ-обработки образцов соевого лецитина, гемоглобина крови крупного рогатого скота, йодированных белков молочной сыворотки, а также коллагенового напитка — многокомпонентного пищевого продукта, включающего до 15% куриного жира, содержащего быстро окисляющиеся липиды.

Данные исследования (табл. 3) подтвердили антимикробную эффективность этого способа консервации, а также отсутствие изменений в органолептических и физико-химических показателях изученных продуктов. Необходимо также отметить, что обработка ЭЛ-излучением позволила уменьшить содержание дрожжей и плесневых грибов в коллагеновом напитке с 80 до  $<10$  КОЕ/г.

После выбора метода консервации при помощи ЭЛ-излучения было продолжено изучение обработанных этим способом образцов мускуса. Результаты контролировались через 3 и 6 мес. с помощью наиболее распространённых микробиологических тестов, характеризующих порчу продукта, — КМАФАнМ (общего количества микроорганизмов), а также количества дрожжей и плесневых грибов.

Первый показатель зависит от режима обработки (в т. ч. консервации) продукта и фиксирует нарушения температурного режима при его транспортировке, хранении и реализации. Увеличение КМАФАнМ однозначно свидетельствует о размножении микроорганизмов, в числе которых могут

**Таблица 3.** Общая обсеменённость различных продуктов после обработки ЭЛ-излучением

**Table 3.** Total contamination of various products after treatment with EL radiation

| Обработанные продукты                    | Исходный<br>КМАФАнМ | КМАФАнМ после обработки β-излучением,<br>поглощённая доза, кГр |                   |                   |
|------------------------------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------|
|                                          |                     | 4                                                              | 6                 | 8                 |
| Соевый лецитин                           | $2,6 \times 10^3$   | $2,2 \times 10^2$                                              | $1,8 \times 10^2$ | $1,5 \times 10^2$ |
| Гемоглобин крови                         | $6,4 \times 10^3$   | <10                                                            | <10               | <10               |
| Йодированные белки<br>молочной сыворотки | $8,0 \times 10^3$   | $2,5 \times 10^2$                                              | <50               | <10               |
| Коллагеновый напиток                     | $1,5 \times 10^3$   | $5,0 \times 10^2$                                              | $2,0 \times 10^2$ | <80               |

оказаться и патогенные, и порче продукта. В ходе хранения образцов изучалось также содержание в них дрожжей и плесневых грибов. Несмотря на то что этот показатель для мускуса не регламентируется требованиями ТР ТС 021/2011, он был принят во внимание в связи с широкой представленностью этих микроорганизмов в микробиоте мускуса.

В настоящее время при длительном хранении продуктов прибегают к методу ускоренного тестирования их срока хранения — ASLT (Accelerated Shelf Life Testing), сокращая процесс получения необходимых экспериментальных данных [4]. ASLT как самый простой и широко используемый метод основан на применении единичного фактора ускорения — температуры — для изучения соответствующих кинетических моделей в ходе испытаний, подтверждающих приемлемый «срок жизни» продукта за короткий период времени, с учётом технологии и реальных условий хранения и реализации продукта потребителю. Данная модель представляет собой модель Аррениуса, связывающую скорость химической реакции с изменениями температуры, и описывается уравнением Аррениуса (1):

$$K = K_0 \times \exp^{-E_a/RT}, \quad (1)$$

где  $K_0$  — константа,  $E_a$  — энергия активации,  $R$  — газовая постоянная,  $T$  — абсолютная температура.

Существует обширная база данных по значениям энергии активации различных реакций химической порчи пищевых

продуктов, которую можно использовать для получения обоснованной оценки влияния температуры на скорость реакции. Если использовать отношение между скоростями реакции при изменении температуры на  $10^\circ\text{C}$ , то можно существенно упростить эту модель, исключив оценку  $K_0$ . В данном случае отношение скоростей известно как критерий  $Q_{10}$ , который показывает, насколько быстрее протекает реакция при повышении температуры на каждые  $10^\circ\text{C}$  (2):

$$Q_{10} = K_t + 10/KT. \quad (2)$$

Эта информация может использоваться для прогнозирования ожидаемого срока годности продукта. Простота использования критерия  $Q_{10}$  позволяет быстро получить необходимые результаты при минимальных практических усилиях.

С этой целью образцы хранили при температуре  $-25$  и  $+5^\circ\text{C}$  и контролировали в них изменения органолептических, физико-химических и микробиологических показателей. Через 6 мес. хранения в органолептических и физико-химических показателях изменений не произошло, выявлено лишь незначительное снижение pH в образцах, хранившихся при  $+5^\circ\text{C}$ .

Данные микробиологического анализа (табл. 4 и рис. 4) показали отсутствие роста общей обсеменённости в образцах, хранившихся при  $-25^\circ\text{C}$ , и незначительный рост — в хранившихся при  $+5^\circ\text{C}$ . Эти показатели были соответственно в 1000 и в 100 раз меньше нормативного значения для сырья мускуса.

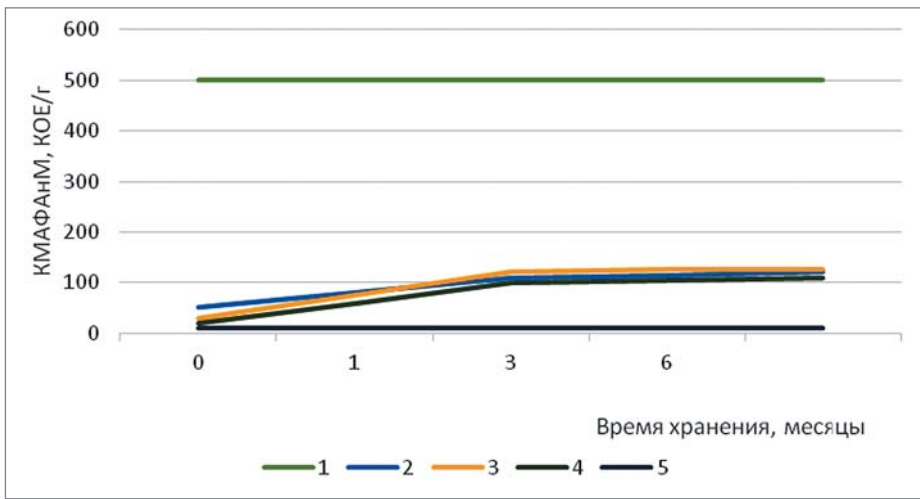
**Таблица 4.** Общая обсеменённость образцов мускуса, обработанного ЭЛ-излучением, при хранении в течение 6-ти мес. при различной температуре

**Table 4.** Total contamination of musk samples treated with EL radiation when stored for 6 months at different temperatures

| Температура хранения, °С | Поглощённая доза, кГр | КМАФАнМ* (КОЕ г/см³) по истечении: |        |                     |
|--------------------------|-----------------------|------------------------------------|--------|---------------------|
|                          |                       | 1 мес.                             | 3 мес. | 6 мес.              |
| + 5                      | 4                     | <50                                | 8,1×10 | 1,1×10 <sup>2</sup> |
| + 5                      | 6                     | <30                                | 7,5×10 | 1,2×10 <sup>2</sup> |
| + 5                      | 8                     | <20                                | 5,8×10 | 1,0×10 <sup>2</sup> |
| –25                      | 4                     | <10                                | <10    | <10                 |
| –25                      | 6                     | <10                                | <10    | <10                 |
| –25                      | 8                     | <10                                | <10    | <10                 |

**Примечание:** \* — норма по СТО 58709973-001-2019 «Мускус кабарги (сырьё)» —  $1 \times 10^4$ .

**Note:** \* — the norm according to STO 58709973-001-2019 “Musk deer extract (raw material)” —  $1 \times 10^4$ .



**Рис. 4.** Рост микрофлоры в образцах мускуса при хранении в течение 6-ти мес. в различных условиях: 1 — исходный образец мускуса, хранившийся при –25 °С: сплошной рост микрофлоры; 2 — образец с поглощённой дозой 4 кГр, хранившийся при +5 °С; 3 — образец с поглощённой дозой 6 кГр, хранившийся при +5 °С; 4 — образец с поглощённой дозой 8 кГр, хранившийся при +5 °С; 5 — образцы с поглощённой дозой 4, 6 и 8 кГр, хранившиеся при –25 °С.

**Fig. 4.** Microflora growth in musk samples during storage for 6 months under various conditions: 1 — the original musk sample stored at –25 °С: continuous growth of microflora; 2 — a sample with an absorbed dose of 4 kGy stored at +5 °С; 3 — a sample with an absorbed dose of 6 kGy stored at +5 °С; 4 — a sample with an absorbed dose of 8 kGy stored at +5 °С; 5 — samples with an absorbed dose of 4, 6 and 8 kGy, stored at –25 °С.

**Таблица 5.** Влияние обработки мускуса ЭЛ-излучением (поглощённая доза 4, 6 и 8 кГр) на содержание основных БАВ в образцах, хранившихся при –25 °С

**Table 5.** The effect of EL radiation (absorbed dose of 4, 6 and 8 kGy) on the content of basic biologically active substances in musk samples stored at –25 °С

| Показатели                         | Мускус до обработки | Мускус, обработанный ЭЛ-излучением, поглощённая доза, кГр |     |     |              |     |     |              |     |     |
|------------------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------|-----|-----|--------------|-----|-----|--------------|-----|-----|
|                                    |                     | через 1 мес.                                              |     |     | через 3 мес. |     |     | через 6 мес. |     |     |
|                                    |                     | 4                                                         | 6   | 8   | 4            | 6   | 8   | 4            | 6   | 8   |
| Белок (водорастворимая фракция), % | 8,8                 | 8,8                                                       | 8,8 | 8,8 | 8,7          | 8,7 | 8,7 | 8,7          | 8,7 | 8,5 |
| Стероиды, мг %                     | 155                 | 155                                                       | 155 | 153 | 154          | 154 | 151 | 153          | 153 | 149 |
| Холестерин, мг %                   | 78                  | 77                                                        | 77  | 76  | 76           | 76  | 74  | 75           | 75  | 72  |

Общим положительным фактом для всех образцов, хранившихся при различных температурах, является отсутствие роста дрожжей и плесневых грибов, суммарное количество которых по сравнению с началом эксперимента не изменилось и осталось меньше 10 КОЕ г/см<sup>3</sup>.

Изучение основных групп БАВ в мускусе, обработанном  $\beta$ -излучением, через 6 мес. его хранения показало сохранность исходных количеств всех важнейших биологически активных компонентов мускуса — белков, стероидов, холестерина (табл. 5).

Известно, что с повышением стандартной температуры на 10 °С скорость химической реакции в животном (мясном) сырье увеличивается в два раза [16], т.е. показатель  $Q_{10}=2$ .

Сроком годности продукта считается период, в течение которого он хранится без существенных потерь качества и функциональных свойств. Таким образом, исходя из рассмотренных выше теоретических предпосылок определения срока годности сырья мускуса ускоренным методом тестирования (ASLT) с использованием модели Аррениуса и критерия  $Q_{10}$ , который в нашем случае будет равен 8, при –25 °С продукт будет стабилен: 8×6 мес.=48 мес., или 4 года.

Тем не менее на данном этапе изучения мускуса для гарантии его качества и безопасности срок хранения сырья составляет 1 год.

## Выводы

На основании проведенных исследований:

1. Разработаны основные показатели качества и безопасности сырья мускуса кабарги для производства активной фармацевтической субстанции и лекарственного животного сырья в соответствии с требованиями Технического регламента Таможенного союза.

2. Получены экспериментальные данные, свидетельствующие о выраженном антимикробном действии обработки мускуса кабарги электронно-лучевым излучением без ухудшения органолептических и физико-химических свойств, не снижающим при этом содержание основных биологически активных веществ.

3. Установлено, что метод обработки мускуса электронно-лучевым излучением с поглощённой дозой 6 кГр (9,5 МэВ) с последующей криоконсервацией при –25 °С можно рекомендовать для консервации и гарантированного хранения этого сырья в течение одного года.

4. Данные, полученные ускоренным методом тестирования, позволяют продлить срок хранения до 48-ми мес. Для его уточнения необходимо провести дополнительное изучение срока хранения мускуса в реальном времени.

5. Впервые разработана и утверждена нормативно-техническая документация (СТО) на мускус кабарги как сырьё, а также опытно-промышленный регламент на его заготовку и консервацию.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Базарнова Ю.Г., Бурова Т.Е., Марченко В.И., Смелик В.А., Третяков Н.А. *Биохимические основы переработки и хранения сырья животного происхождения*. СПб.: Проспект Науки, 2011. 192 с. [Bazarnova Yu.G., Burova T.Ye., Marchenko V.I., Smelik V.A., Tret'yakov N.A. *Biokhimicheskiye osnovy pererabotki i khraneniya syr'ya zhivotnogo proiskhozhdeniya* [Biochemical fundamentals of processing and storage of raw materials of animal origin]. St. Petersburg: Prospect Nauki Publ., 2011. 192 p. (In Russian)].
2. Беннетт А. Лактопероксидазная система консервирования сырого молока. *Молочная промышленность*. 2008(9):70–73. [Bennett A. Laktoperoksidaznaya sistema konservirovaniya syrogo moloka [Lactoperoxidase preservation system of raw milk]. *Molochnaya promyshlennost'* [Dairy industry]. 2008(9):70–73. (In Russian)].
3. Богачёв А.С., Богачёв С.А. *О сырье народной медицины*. Уссурийск, 1993. С. 76–79. [Bogachov A.S., Bogachov S.A. *O syr'ye narodnoy meditsiny* [About the raw materials of traditional medicine]. Ussuriysk, 1993. P. 76–79. (In Russian)].

4. Валентас К., Ротштейн Э., Сингх Р.П. *Пищевая инженерия: справ.* СПб.: Профессия, 2004. 386 с. [Valentas K., Rotshteyn E., Singkh R.P. *Pishchevaya inzheneriya: sprav.* [Food Engineering: A Handbook]. St. Petersburg: Professiya Publ., 2004. 386 p. (In Russian)].
5. Габидова А.Э. *Анализ микробиологического риска в производстве пищевых продуктов и лекарственных препаратов* / Под ред. Галынкин В.А. СПб: Проспект Науки, 2016. 384 с. [Gabidova A.E. *Analiz mikrobiologicheskogo riska v proizvodstve pishchevykh produktov i lekarstvennykh preparatov* [Microbiological risk analysis in food and drug production]. Ed. by V.A. Galynkin. St. Petersburg: Prospect Nauki Publ., 2016. 384 p. (In Russian)].
6. ГОСТ ИСО 14470-2014. *Радиационная обработка пищевых продуктов. Требования к разработке, валидации и повседневному контролю процесса облучения пищевых продуктов ионизирующим излучением.* [GOST ISO 14470-2014. *Radiatsionnaya obrabotka pishchevykh produktov. Trebovaniya k razrabotke, validatsii i povsednevnomu kontrolyu protessa oblucheniya pishchevykh produktov ioniziruyushchim izlucheniym* [Radiation processing of food products with ionizing radiation]. (In Russian)].
7. ГОСТ Р 52428. *Продукция мясной промышленности. Классификация.* [GOST R 52428. *Produktsiya myasnoy promyshlennosti. Klassifikatsiya* [Products of the meat industry. Classification]. (In Russian)].
8. ГОСТ Р 52249-2009. *Правила производства и контроля качества лекарственных средств (GMP).* М.: Стандартинформ, 2010. 131 с. [GOST R 52249-2009. *Pravila proizvodstva i kontrolya kachestva lekarstvennykh sredstv (GMP)* [Rules for the production and quality control of medicines (GMP)]. Moscow: Standartinform Publ., 2010. 131 p. (In Russian)].
9. Журавская Н.К., Алехина Л.Т., Отыашенкова Л.М. *Исследование и контроль качества мяса и мясopодуктов.* М.: Агропромиздат, 1985. 296 с. [Zhuravskaya N.K., Alekhina L.T., Otyashenkova L.M. *Issledovaniye i kontrol' kachestva myasa i myasoproduktov* [Research and quality control of meat and meat products]. Moscow: Agropromizdat Publ., 1985. 296 p. (In Russian)].
10. Кобянюк В.О., Полякова И.В., Саруханов В.Я., Исамов Н.Н., Фролова Н.А. *Радиационная обработка полуфабрикатов и пищевых продуктов, готовых к употреблению. Метод. науч.-практ. конф., посв. памяти Горбатова В.Н.* 2017;(1):155–159. [Kobyanyuk V.O., Polyakova I.V., Sarukhanov V.Ya., Isamov N.N., Frolova N.A. *Radiatsionnaya obrabotka polufabrikatov i pishchevykh produktov, gotovykh k upotrebleniyu* [Radiation processing of convenience foods and ready-to-eat foods]. *Metod. nauch.-prakt. konf., posv. pamyati Gorbatova V.N.* [Method. scientific and practical conference memory of Gorbatov V.N.]. 2017;(1):155–159. (In Russian)].
11. Козь Я.В. *Лучевая обработка пищевых продуктов. Бюллетень МАГАТЭ.* 2010;23(3):37–41. [Koev Ya.V. *Luchevaya obrabotka pishchevykh produktov* [Radiation processing of food products]. *MAGATE bulletin*, 2010;23(3):37–41. (In Russian)].
12. Кузнецов Б.А. *Товароведение второстепенных видов животного сырья.* М.: Международная книга, 1947. С. 275–277. [Kuznetsov B.A. *Tovarovedeniye vtorostepennykh vidov zhitovnoyo syr'ya* [Commodity research of secondary types of animal raw materials]. Moscow: Mezhdunarodnaya kniga Publ., 1947. P. 275–277. (In Russian)].
13. Патент РФ 2147801, А01N 1/02 «Способ консервирования кабарговой струи», 27.04.2000 г., БИ. № 12, 2000. [Patent of RF 2147801, A01N 1/02 “Sposob konservirovaniya kabargovoy strui” [Method for preserving the musk deer jet], 27.04.2000, BI. No. 12, 2000. (In Russian)].
14. Приходько В.И. Кабарга. *Происхождение, систематика, экология, поведение и коммуникация.* М.: Геос, 2003. 443 с. [Prihodko V.I. Kabarga. *Proiskhozhdeniye, sistematika, ekologiya, povedeniye i kommunikatsiya* [Musk deer: Origin, systematics, ecology, behavior and communication]. Moscow: Geos Publ., 2003. 443 p. (In Russian)].
15. Рогов И.А., Куцакова В.Е., Фролов В.И. *Консервирование пищевых продуктов холодом (теплофизические основы).* М.: Колос, 1998. 158 с. [Rogov I.A., Kutsakova V.Ye., Frolov V.I. *Konservirovaniye pishchevykh produktov kholodom (teplofizicheskiye osnovy)* [Cold food preservation (thermophysical basis)]. Moscow: Kolos Publ., 1998. 158 p. (In Russian)].
16. Стем З. *Срок годности пищевых продуктов. Расчёт и испытание.* СПб.: Профессия, 2006. 480 с. [Stem Z. *Srok godnosti pishchevykh produktov. Raschyot i ispytaniye* [Shelf life of food products. Calculation and testing]. St. Petersburg: Profession Publ., 2006. 480 p. (In Russian)].
17. Стрингер М., Деннис К. *Охлаждённые и замороженные продукты* / Под науч. ред. Н.А. Уваровой. СПб.: Профессия, 2004. 495 с. [Stringer M., Dennis K. *Okhlazhdonnyye i zamorozhennyye produkty* [Chilled and frozen foods]. Sci. ed. by N.A. Uvarova. St. Petersburg: Professiya Publ., 2004. 495 p. (In Russian)].
18. Уйба В.В., Котенко К.В., Коржачкина Н.Б., Петрова Н.Б., Михайлова А.А. *Применение мускуса кабарги в клинической практике (метод. реком.).* М., 2013. 18 с. [Uyba V.V., Kotenko K.V., Korzhachkina N.B., Petrova N.B., Mikhaylova A.A. *Primeneniye muskusa kabargi v klinicheskoy praktike (metod. rekom.)* [The use of musk musk deer in clinical practice (guidelines)]. Moscow, 2013. 18 p. (In Russian)].



19. Huis J., In't Veld J.H. Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International J. of Food Microbiology*. 1996;33(1):1–18.

20. Li D., Chen B., Zhang L., Gaur U., Ma T., et al. *The musk chemical composition and microbiota of Chinese forest musk deer males*. Scientific Report. 2016.

---

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

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

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

**Люблинская Ирина Николаевна\***, ООО «Научно-производственная фирма «МОБИТЕК-М»»;  
e-mail: [mobitek-m@mail.ru](mailto:mobitek-m@mail.ru)

**Irina N. Lyublinskaya\***, Scientific-Production Firm “MOBITEK-M”;  
e-mail: [mobitek-m@mail.ru](mailto:mobitek-m@mail.ru)

**Галочкина Валентина Петровна**, д.б.н.,  
ООО «Научно-производственная фирма «МОБИТЕК-М»»

**Valentina P. Galochkina**, Dr. Sci. (Biol.), Scientific-Production Firm “MOBITEK-M”

**Колоскова Елена Михайловна**, к.б.н.,  
ООО «Научно-производственная фирма «МОБИТЕК-М»»;  
e-mail: [heleko3@yandex.ru](mailto:heleko3@yandex.ru)

**Elena M. Koloskova**, Cand. Sci. (Biol.), Scientific-Production Firm “MOBITEK-M”;  
e-mail: [heleko3@yandex.ru](mailto:heleko3@yandex.ru)

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

**Нестеров Максим Сергеевич**, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий  
Федерального медико-биологического агентства России»;  
e-mail: [mdulya@gmail.com](mailto: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](mailto:mdulya@gmail.com)

**Берзин Игорь Александрович**, д.м.н., проф.,  
заслуженный врач РФ, Федеральное медико-биологическое агентство;  
e-mail: [berzin27@yandex.ru](mailto:berzin27@yandex.ru)

**Igor A. Berzin**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Honored Doctor of the Russian Federation, Federal Medical and Biological Agency;  
e-mail: [berzin27@yandex.ru](mailto:berzin27@yandex.ru)

**Агельдинов Руслан Андреевич**, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий  
Федерального медико-биологического агентства России»;  
e-mail: [ageldinov@gmail.com](mailto:ageldinov@gmail.com)

**Ruslan A. Ageldinov**, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
e-mail: [ageldinov@gmail.com](mailto:ageldinov@gmail.com)

**Чурюкин Роман Сергеевич**, к.б.н.,  
ООО «Теклеор»;  
e-mail: [rchuryukin@tecleor.com](mailto:rchuryukin@tecleor.com)

**Roman S. Churyukin**, Cand. Sci. (Biol.), Tekleor;  
e-mail: [rchuryukin@tecleor.com](mailto:rchuryukin@tecleor.com)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## ИССЛЕДОВАНИЕ И ОЦЕНКА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *NFE2L2* ПРИ АДАПТАЦИИ К ФИЗИЧЕСКИМ НАГРУЗКАМ У МИНИ-ПИГОВ

В.Н. Каркищенко, Н.В. Петрова\*, Н.В. Станкова, В.В. Слободенюк,  
О.В. Алимкина, М.И. Кулакова, И.А. Васильева

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

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

В статье показана экспрессия гена *NFE2L2* (Nuclear Factor, Erythroid 2 Like 2) при адаптации к физическим нагрузкам (достижении оксидативного стресса) у мини-пигов. В эксперименте воспроизведены естественные условия оксидативного стресса у лабораторных животных (мини-пигов, 16 особей). Спортивная тренировка является оптимальной и естественной моделью усиленной диссимиляции как причины оксидативного стресса. Результаты исследования свидетельствуют, что ген *NFE2L2*, кодирующий фактор транскрипции Nrf2, активно экспрессируется в ответ на оксидативный стресс в клетках организма животных. Ген *NFE2L2* может служить оценочным критерием при проведении молекулярно-генетических исследований работоспособности и выносливости для индивидуального отбора по группам. Он рекомендован для проведения исследований влияния фармакологических препаратов на восстановительные свойства организма при возможном выборе фармнутриентов и экстраполяции исследований на человека. Важным практическим результатом и показателем адаптации является повышение работоспособности. Возможность повлиять на экспрессию гена *NFE2L2* может усилить способность организма к адаптации в условиях кислородного голодания.

**Ключевые слова:** оксидативный стресс, адаптация, выносливость, ДНК, ген *NFE2L2*, мини-пиги

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

**Для цитирования:** Каркищенко В.Н., Петрова Н.В., Станкова Н.В., Слободенюк В.В., Алимкина О.В., Кулакова М.И., Васильева И.А. Исследование и оценка молекулярно-генетических признаков экспрессии гена *NFE2L2* при адаптации к физическим нагрузкам у мини-пигов. *Биомедицина*. 2020;16(1):42–55. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-42-55>

Поступила 31.10.2019

Принята после доработки 23.01.2020

Опубликована 10.03.2020

## STUDY AND EVALUATION OF MOLECULAR GENETIC SIGNS OF THE *NFE2L2* GENE EXPRESSION DURING ADAPTATION TO PHYSICAL LOADS IN MINI PIGS

Vladislav N. Karkischenko, Nataliya V. Petrova\*,  
Nataliya V. Stankova, Vladimir V. Slobodenyuk, Oksana V. Alimkina,  
Mariya I. Kulakova, Irina A. Vasil'eva

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

This article sets out to evaluate the expression of the *NFE2L2* gene (Nuclear Factor, Erythroid 2 Like 2) when adapting to physical loads (achieving oxidative stress) in mini pigs. The conducted experiment reproduced natural conditions of oxidative stress in laboratory animals (16 mini pigs). Sports training is the most optimal and natural model of enhanced dissimulation as a cause of oxidative stress. The results of the study indicate that the *NFE2L2* gene encoding the Nrf2 transcription factor is actively expressed in response to oxidative stress in animal cells. The *NFE2L2* gene can serve as an evaluation criterion for molecular genetic studies of performance and endurance for individual selection by groups. Such evaluation can be recommended for studies aimed at revealing the effects of pharmacological drugs on the regenerative properties of the body, with the possible choice of pharmaceutical ingredients and extrapolation from animal studies to humans. An important practical result and an indicator of adaptation is increased performance. The possibility of affecting the expression of the *NFE2L2* gene paves the way to enhancing the body's ability to adapt to oxygen starvation.

**Keywords:** oxidative stress, adaptation, endurance, DNA, *NFE2L2* gene, mini pigs

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

**For citation:** Karkischenko V.N., Petrova N.V., Stankova N.V., Slobodenyuk V.V., Alimkina O.V., Kulakova M.I., Vasil'eva I.A. Study and Evaluation of Molecular Genetic Signs of the *NFE2L2* Gene Expression during Adaptation to Physical Loads in Mini Pigs. *Journal Biomed.* 2020;16(1):42–55. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-42-55>

Submitted 31.10.2019

Revised 23.01.2020

Published 10.03.2020

## Введение

Оксидативный стресс в силу чрезвычайной химической активности форм кислорода приводит к различным побочным эффектам, в первую очередь таким, как усиление воспалительных процессов, что ведет к разрушению клеточных и тканевых структур и, как принято считать, к старению клеток и организма в целом. Он также может являться причиной целого ряда патологических процессов (атеросклероз, нейродегенеративные заболевания, рак) [3].

Около 98 % всего потребляемого клеткой кислорода восстанавливается в митохондриях до воды в процессе окислительного фосфорилирования, но 2 % — за счёт побочных реакций, в основном в начале или в середине дыхательной цепи митохондрий, в т. ч. в реакциях, катализируемых цитохром С-оксидазой, — превращаются сначала в частично восстановленный супероксид кислорода, а затем — в гидроксильный радикал  $\text{OH}\cdot$ , также относящийся к активным формам кислорода (АФК) [4].

Активные формы кислорода (АФК, реактивные формы кислорода — РФК, англ. Reactive

Oxygen Species, ROS) включают ионы кислорода, свободные радикалы и перекиси как неорганического, так и органического происхождения. Это, как правило, небольшие молекулы с исключительной реактивностью благодаря наличию неспаренного электрона на внешнем электронном уровне. АФК постоянно образуются в живой клетке как продукты нормального метаболизма кислорода. Активные формы кислорода образуются также под действием ионизирующего излучения. Некоторые АФК могут играть роль медиаторов важных внутриклеточных сигнальных путей, однако повышенная продукция АФК приводит к оксидативному стрессу.

Естественная защита клетки от АФК осуществляется несколькими антиоксидантными ферментами (супероксиддисмутаза, каталаза и пероксиредоксины) и низкомолекулярными антиоксидантами (витамин С, глутатион, мочевиная кислота), некоторыми полифенолами [5, 6].

Важнейшим участником антиоксидантной защиты во всех клетках является **фактор транскрипции Nrf2 (ген *NFE2L2*)**, под контролем которого находятся все

гены, кодирующие детоксифицирующие ферменты. Nrf2 экспрессируется во многих органах: больше всего в почках, мышцах, менее — в легких, сердце, печени и головном мозге. Наиболее изучена роль этого белка в составе редокс-чувствительной сигнальной системы Keap1/Nrf2/ARE, или т.н. «системы трех фаз детоксификации». При нормальных условиях, в отсутствие стресса, Nrf2 поддерживается в цитоплазме кластером белков, которые быстро его деградируют. При влиянии окислительного стресса Nrf2 не разрушается, а вместо этого переходит в ядро, где связывается с промотором ДНК и инициирует транскрипцию антиоксидантных генов и их белков [2]. Во время первой фазы осуществляется связывание ксенобиотиков. Во время второй фазы уничтожаются активные формы кислорода. Белки второй фазы детоксификации — ферменты, метаболизирующие свободные радикалы, «чинящие» поврежденные клеточные структуры или же напрямую связывающие поврежденные активными формами кислорода липиды. Во время третьей фазы связанные токсины выбрасываются за пределы клетки с помощью особых насосов, которые работают за счет энергии АТФ. Ферменты, транскрипция которых индуцируется фактором Nrf во время второй фазы детоксификации, — это белки ARE (antioxidant response element — элементы, отвечающие за ответ на активные формы кислорода). При индукции синтеза ARE транскрипционный фактор Nrf перемещается в ядро. Вещества, активирующие запуск синтеза белков ARE через фактор Nrf, могут усиливать ответ на окислительный стресс и запускать синтез белков второй фазы детоксификации. Таким образом, активировав фактор Nrf, можно запустить синтез белков второй фазы детоксификации и запустить процесс «обезвреживания» активных форм кислорода — одной из основных причин старения (рис. 1) [1, 7, 8].

Возможность повлиять на экспрессию гена *NFE2L2* может усилить способность организма к адаптации в условиях кислородного голодания. Спортивная тренировка — самая оптимальная и естественная модель усиленной диссимиляции как причины оксидативного стресса. Важным практическим результатом и показателем адаптации является повышение работоспособности. Уровень физической работоспособности весьма индивидуален и зависит от многих факторов: генетический полиморфизм, пол, возраст, состояние здоровья, двигательная активность и др.

**Цель работы** — изучить процесс усиленного катаболизма в организме мини-пигов при достижении оксидативного стресса и провести исследование уровня экспрессии гена *NFE2L2* для оценки степени его влияния на восстановительные процессы.

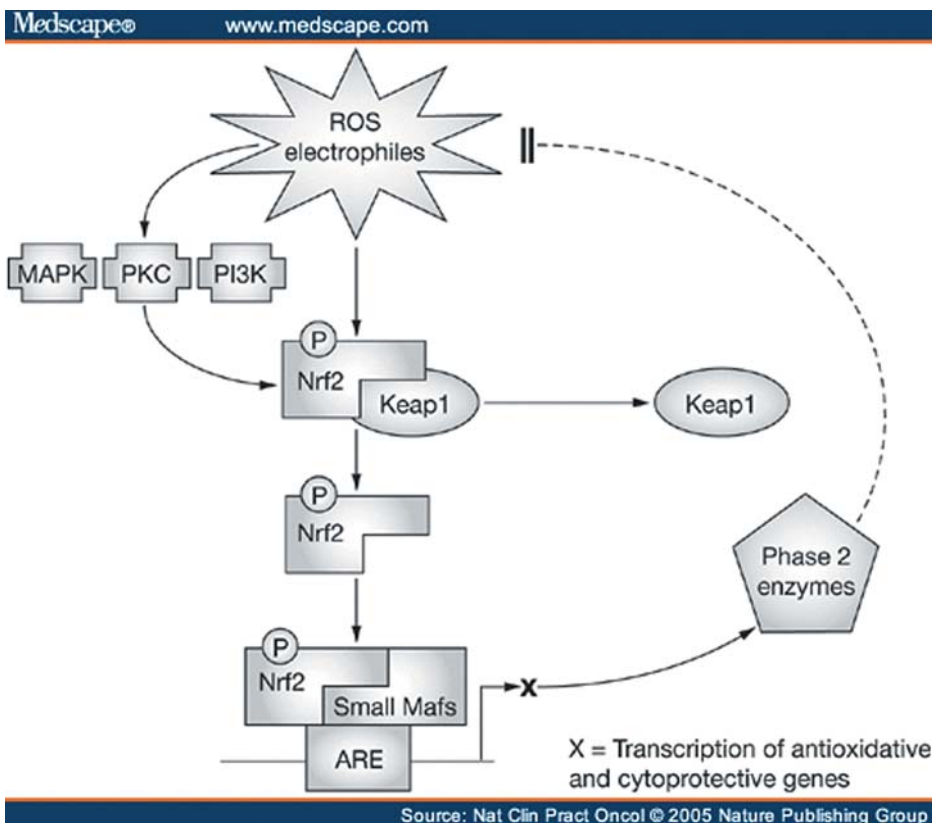
Задачи:

- 1) создание естественных условий оксидативного стресса в клетках исследуемых особей мини-пигов;
- 2) сбор биоинформационного анализа последовательностей гена *NFE2L2* мини-пигов с помощью базы NCBI, специфичных для отбора наиболее перспективных нуклеотидных последовательностей для использования в синтезе праймеров и флуоресцирующего зонда;
- 3) исследования уровня экспрессии гена *NFE2L2* у мини-пигов при физической нагрузке.

## Материалы и методы

### Подбор экспериментальной группы лабораторных животных

Для проведения опытов по влиянию различных препаратов на работоспособность лабораторных животных требуются обученные животные, на которых возможно моделировать тренировочный процесс



**Рис. 1.** Упрощенная модель активации фактора Nrf2.

**Примечание:** Nrf2 ингибируется фактором Keap1. Под влиянием ROS (реактивных форм кислорода) Keap1 отсоединяется от Nrf2. В результате Nrf2 фосфорилируется и образует комплексы с белками Maf. Активный комплекс (Nrf-Maf) запускает транскрипцию генов, кодирующих белки второй фазы детоксификации. Эти белки защищают клетку от активных форм кислорода.

**Fig. 1.** A simplified model of Nrf2 factor activation.

**Note:** Nrf2 is inhibited by Keap1. Under the influence of ROS (reactive oxygen species), Keap1 is disconnected from Nrf2. As a result, Nrf2 is phosphorylated thus forming complexes with Maf proteins. The active complex (Nrf-Maf) launches the transcription of genes encoding proteins of the second phase of detoxification. These proteins protect cells from reactive oxygen species.

подобно спортсменам. В лаборатории спортивной биомедицины НЦБМТ ФМБА России успешно используются мини-свиньи светлогорской популяции в исследованиях работоспособности, когда животные получают физическую нагрузку во время бега на тредбане.

В эксперименте участвовали 16 животных: 8 хрячков (живая масса  $7,42 \pm 1,65$  кг) и 8 свинок (живая масса  $8,38 \pm 2,72$  кг) в возрасте 3,5–4,5 мес. Содержание

и кормление — в стационарных клетках из стали, индивидуально, согласно зоотехническим нормам. Помещения поддерживаются в чистом и сухом состоянии. В качестве корма для мини-свиней применяется стандартный «Комбикорм гранулированный полнорационный для лабораторных животных (экструдированный) ПК-58» (ООО «Лабораторкорм», Россия).

Водопроводная очищенная вода всем животным дается *ad libitum* в стандартных



поилках. Животные содержатся в контролируемых условиях окружающей среды: температура воздуха 18–22 °С и относительная влажность 50–60%. Освещение в помещениях — естественно-искусственное (ритм «день — ночь»), достаточное количество дневного света — 300–450 люкс. Помещения оборудованы системой приточной вентиляции воздуха.

### **Создание естественных условий оксидативного стресса в клетках исследуемых организмов**

Для активации повышенной продукции АФК в клетках исследуемых животных применяли физическую нагрузку в виде бега на тредбане с предварительным обучением. Для бега использовали три беговых дорожки Torneo T-203. При обучении животных использовали постепенное увеличение нагрузки, дистанционный метод тренировки и принцип положительного подкрепления, электростимуляцию не применяли. Животных приучали к дорожке 1 раз в неделю в течение 3-х недель.

### **Сбор биоматериала для оценки уровня экспрессии исследуемых генов**

В качестве исследуемых проб использовалась венозная кровь, которую, согласно табл. 1, брали из краниальной полости вены одноразовыми шприцами, фиксировали животных на V-образном столе. Кислород в крови измеряли с помощью ветеринарного монитора.

**Таблица 1.** Пробы крови для дальнейшей оценки экспрессии гена *NFE2L2*

**Table 1.** Blood samples for further evaluation of the *NFE2L2* gene expression

| Номер пробы | Временная точка                |
|-------------|--------------------------------|
| 1           | До тренировки (фон)            |
| 2           | 1 ч после физической нагрузки  |
| 3           | 10 ч после физической нагрузки |
| 4           | 24 ч после физической нагрузки |

**Таблица 2.** Олигонуклеотидные праймеры и зонд ПЦР-системы

**Table 2.** Oligonucleotide primers and the PCR probe system

| Праймеры и зонд  | Нуклеотидная последовательность             |
|------------------|---------------------------------------------|
| Праймер Forward  | <b>F 5-GGCATCACCAGAACTCAG-3</b>             |
| Праймер Reverse  | <b>R 5-GCATCACACACTGGAGCACT-3</b>           |
| Зонд ПЦР-системы | <b>Z ROX-CTATGGAGACACACTGCTTGCTTC-BHQ-2</b> |

### **Выделение нуклеиновой кислоты из собранного биоматериала**

Из исследуемого материала выделяли РНК методом магнитной сепарации с помощью набора для выделения Магно-сорб («ИнтерЛабСервис», Россия) на автоматической станции выделения нуклеиновых кислот и белков Kingfisher DUO («Thermo Scientific», Финляндия). Принцип выделения РНК с помощью набора Магно-сорб приведен в инструкции производителя.

### **Проведение ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР)**

В данном случае ПЦР производят на матрице ДНК, полученной в результате обратной транскрипции одноцепочечной РНК в ДНК. Синтез первой цепи кДНК проводили согласно инструкции «Комплект реагентов для получения кДНК на матрице РНК РЕВЕРТА-L» («ИнтерЛабСервис», Москва) при 37 °С — 30 мин в течение одного цикла.

### **Проведение ПЦР в реальном времени**

Исследование экспрессии гена *NFE2L2* в пробах венозной крови мини-пигов производилось с помощью детектирующего амплификатора CFX-96 («Bio-Rad», США) и специфических праймеров и зондов к генам (табл. 2).

Стадию амплификации кДНК гена *NFE2L2* в режиме реального времени проводили в 25 мкл смеси: ПЦР-буфер (×10):

700 mM Трис- $\text{HCl}$ , pH 8,6/25 °C, 166 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 25 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0,2 mM dNTPs, Taq-полимераза, на детектирующем амплификаторе CFX-96 («Bio-Rad», США).

Подбор оптимальных условий проведения амплификации отражен в табл. 3.

### Гематологическое и биохимическое исследование крови

Гематологические исследования цельной крови выполнялись на гематологическом анализаторе BC-3200 («Mindray», Китай) с забором крови в пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА).

Биохимические показатели крови определяли на биохимическом анализаторе «ChemWell+» (США) с использованием реагентов фирмы «Spinreact» (Испания) в сыворотке крови без следов гемолиза.

### Результаты исследований

В результате курса приучения животных к беговой дорожке была получена группа из 16-ти животных (8 хрячков и 8 свинок), способных спокойно двигаться по ней со скоростью 4 км/ч по 10–15 мин.

Эксперимент, при котором животные проходили физическую тренировку, проводился с постепенным увеличением нагрузки (скорости). Животные бегали на беговых дорожках до отказа, показывая увеличенное время на каждом новом этапе эксперимента. Между этапами делались перерывы

(1 мес.), в течение которых животные тренировались 1 раз в неделю с новыми условиями для усиления адаптации. Всего было проведено 3 этапа (табл. 4).

Данные, полученные при проведении эксперимента на беговой дорожке, выраженные в минутах, в течение которых животные справлялись с нагрузками, представлены в табл. 5. Измерения содержания кислорода в крови мини-свиней, выраженного в % от общего количества газов, проводились на 3-м этапе эксперимента.

Проведена пробоподготовка в виде выделения РНК из проб крови и дальнейший ее перевод в кДНК методом ОТ-ПЦР, а затем амплификация ПЦР в реальном времени (рис. 2).

В табл. 6 представлены данные перевода пороговых уровней в количество копий искомого гена в каждой пробе, рассчитанных с помощью программного обеспечения детектирующего амплификатора CFX-96 («Bio-Rad», США).

### Обсуждение результатов

Светлогорские мини-свиньи оказались легкообучаемыми и проявили себя как оптимальная модель для проведения экспериментов, связанных с физическими нагрузками.

Обнаружено, что наилучшие результаты показали самцы № 4, 5 и самка № 7, наименее

Таблица 3. Режимы проведения амплификации в реальном времени

Table 3. Real-time amplification modes

| Режимы                | Температура | Продолжительность | Число циклов |
|-----------------------|-------------|-------------------|--------------|
| Начальная денатурация | 95 °C       | 3 мин             | 1            |
| Денатурация           | 95 °C       | 20 сек            | 45           |
| Отжиг                 | 64 °C       | 40 сек            |              |
| Элонгация             | 72 °C       | 30 сек            |              |

Таблица 4. План экспериментальных физических нагрузок и тренировок

Table 4. Scheme of experimental physical training

| Этап эксперимента | Уровень физической нагрузки — скорость, км/ч | Кратность тренировок            |
|-------------------|----------------------------------------------|---------------------------------|
| 1                 | 4                                            | 1 раз в неделю в течение 1 мес. |
| 2                 | 5                                            | 1 раз в неделю в течение 1 мес. |
| 3                 | 5                                            | 1 раз в неделю в течение 1 мес. |

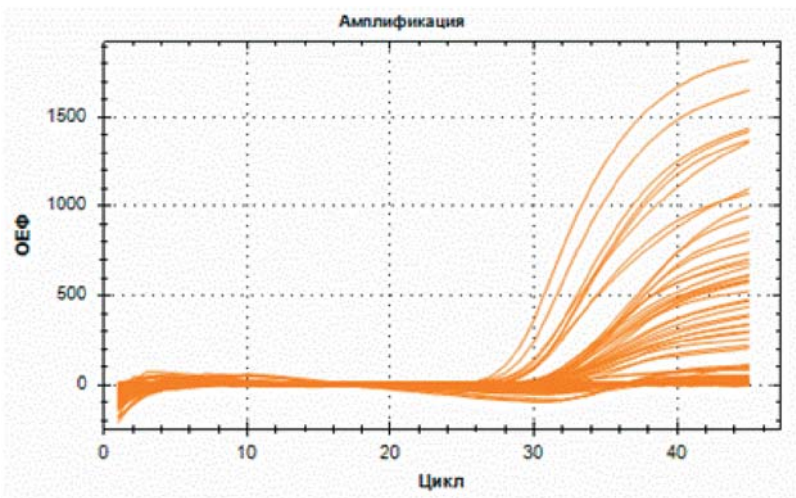
**Таблица 5.** Результаты, показанные экспериментальной группой при проведении физических нагрузок, согласно плану

**Table 5.** Results shown by the experimental group during physical activity, according to the plan

| № пробы /<br>животного и пол | Продолжительность нагрузки, мин |          |          | Измерения уровня кислорода (pO <sub>2</sub> ), % |                |
|------------------------------|---------------------------------|----------|----------|--------------------------------------------------|----------------|
|                              | 1-й этап                        | 2-й этап | 3-й этап | до нагрузки                                      | после нагрузки |
| 1♂                           | 43                              | 40       | 41       | 95                                               | 86             |
| 2♂                           | 27                              | 29       | 31       | 93                                               | 84             |
| 3♂                           | 27                              | 34       | 29       | 89                                               | 92             |
| 4♂                           | 40                              | 63       | 66       | 75                                               | 84             |
| 5♂                           | 43                              | 58       | 64       | 97                                               | 94             |
| 6♂                           | 43                              | 47       | 42       | 96                                               | 90             |
| 7♂                           | 43                              | 55       | 42       | 96                                               | 92             |
| 8♂                           | 40                              | 40       | 43       | 97                                               | 92             |
| 1♀                           | 42                              | 30       | 30       | 78                                               | 95             |
| 2♀                           | 41                              | 34       | 22       | 57                                               | 92             |
| 3♀                           | 41                              | 45       | 60       | 94                                               | 93             |
| 4♀                           | 43                              | 44       | 49       | 71                                               | 90             |
| 5♀                           | 42                              | 34       | 60       | 98                                               | 91             |
| 6♀                           | 46                              | 40       | 42       | 92                                               | 90             |
| 7♀                           | 43                              | 53       | 57       | 64                                               | 95             |
| 8♀                           | 46                              | 34       | 53       | 92                                               | 96             |

**Примечание:** согласно продолжительности выполнения нагрузки все исследуемые животные условно разделены на подгруппы. Красным цветом обозначены наихудшие результаты — длительность нагрузки составила 22–31 мин, зеленым — наилучшие (64–66 мин), оранжевым — средние показатели (42–53 мин).

**Note:** according to the duration of the load, all studied animals were conditionally divided into subgroups. Red indicates the worst results — the duration of the load was 22–31 minutes; green shows the best results (64–66 minutes); orange shows average results (42–53 minutes).



**Рис. 2.** Графическое изображение сигналов флуоресценции проведенной амплификации.

**Примечание:** пробы крови были взяты по 4-м временным точкам согласно табл. 1: до нагрузки (фон) и через 1, 10 и 24 ч после нагрузки (всего 64 пробы). По оси абсцисс — относительные единицы флуоресценции, по оси ординат — циклы амплификации.

**Fig. 2.** Graphical representation of the fluorescence signals obtained following amplification.

**Note:** blood samples were taken at 4 time points, according to Table 1: before the load (background) and 1, 10 and 24 hours after the load (total 64 samples). The abscissa and ordinate axes show relative fluorescence and amplification cycles, respectively.

**Таблица 6.** Результат амплификации гена *NFE2L2* в пробах, выраженный в количестве копийных участков гена  
**Table 6.** The result of amplification of the *NFE2L2* gene in samples, expressed in the number of copy sections of the gene

| Номер животного | Количество амплифицированных участков исследуемого гена в различных пробах |                    |                     |                     |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
|                 | фон                                                                        | 1 ч после нагрузки | 10 ч после нагрузки | 24 ч после нагрузки |
| 1♂              | нд                                                                         | 4766               | нд                  | 24939               |
| 2♂ (худший)     | нд                                                                         | 2738               | 8175                | нд                  |
| 3♂ (худший)     | нд                                                                         | 8058               | 107461              | 8536                |
| 4♂ (лучший)     | нд                                                                         | 1334               | нд                  | нд                  |
| 5♂ (лучший)     | нд                                                                         | 48697              | 865964              | 48697               |
| 6♂              | 23714                                                                      | 25483              | нд                  | 5623                |
| 7♂              | нд                                                                         | 1539927            | 23714               | 11548               |
| 8♂              | 23714                                                                      | 294273             | 23714               | 17783               |
| 1♀              | 20535                                                                      | 16548              | 11548               | нд                  |
| 2♀ (худшая)     | нд                                                                         | 107461             | 25483               | 52330               |
| 3♀              | нд                                                                         | 27384              | 107461              | нд                  |
| 4♀              | нд                                                                         | 23714              | нд                  | нд                  |
| 5♀              | нд                                                                         | 25483              | 48697               | 86596               |
| 6♀              | 4217                                                                       | 107461             | нд                  | нд                  |
| 7♀ (лучшая)     | нд                                                                         | 6494               | 3652                | 8058                |
| 8♀              | 25483                                                                      | 69783              | нд                  | нд                  |

**Примечание:** обозначения «худший/лучший» — в соответствии с результатами, приведенными в табл. 5; нд — нет данных.

**Note:** the designation “worst/best” — in accordance with the results given in Table 5; нд — no data.

шее время показали самцы № 2, 3 и самка № 2 (рис. 3, 4). Данные по экспрессии гена *NFE2L2* именно этих особей представляют для исследования наибольший интерес, т. к. лучшей адаптацией теоретически должны обладать те животные, которые в наибольшей степени справляются с оксидативным стрессом. Для объективного анализа также стоит отметить средние показатели: самцы № 1, 6 и 7, а также самки № 4, 6 и 8.

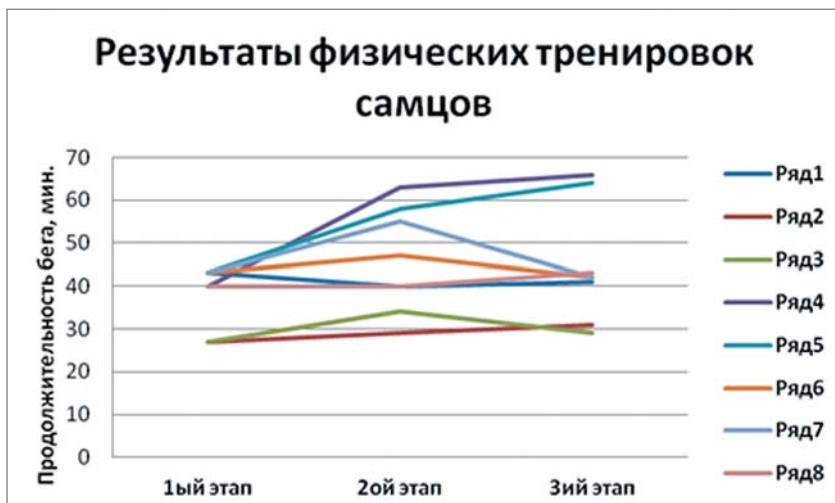
Исходя из этих данных, в дальнейшем анализе использовались только показатели по следующим особям: самцы № 3, 5, 7; самки № 2, 7, 8.

Наглядное сравнение полученных величин представлено на рис. 5. Указаны данные экспериментальных животных по беговым характеристикам в соответствии с полученными молекулярно-генетическими показателями гена *NFE2L2* по каждой особи.

По результатам амплификации (рис. 6) видно, что у всех животных уровень экспрессии гена *NFE2L2* снижается через 24 ч после физической нагрузки, что связано с уменьшением АФК в клетках к этому вре-

мени. Также очевидно, что у самок активность *Nrf2* проявляется меньше, что связано с меньшими физическими способностями женского организма в целом.

Картина изменения уровня экспрессии гена *NFE2L2* одинакова у особей с худшим и лучшим результатом: *Nrf2* наиболее активно экспрессируется через 10 ч после тренировки, затем, через сутки, снова достигает того же значения, что и через 1 ч после нагрузки. Следовательно, в этот период происходит интенсивная работа системы детоксификации *Keap1/Nrf2/ARE*, и *Nrf2* в большой концентрации инициирует синтез антиоксидантных белков в качестве промотора их генов, находясь при этом в ядре. В цитоплазме возникает недостаток данного фактора транскрипции, вследствие чего запускается активная экспрессия белков *Nrf2* с соответствующего гена *NFE2L2*. Вероятно, наивысшая концентрация АФК как главных факторов кислородного голодания и связанного с ним цитологического стресса достигается именно через несколько часов после тренировки (2–10 ч) из-за цепных реакций

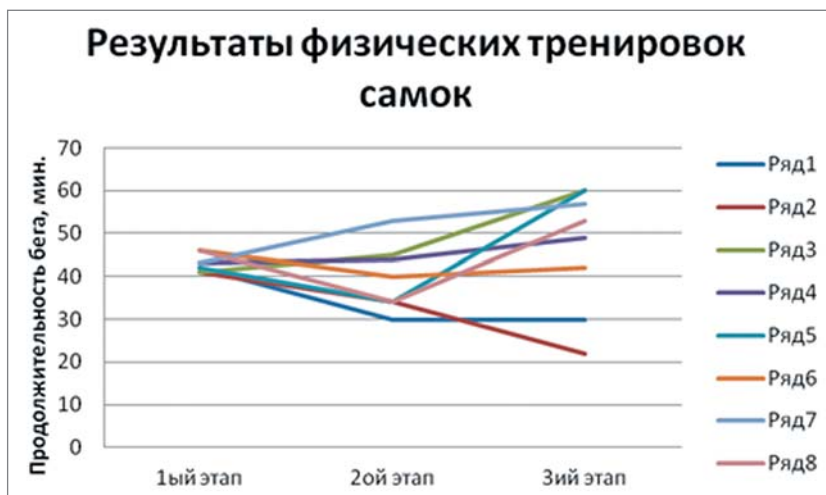


**Рис. 3.** Результаты, показанные самцами на всех этапах эксперимента.

**Примечание:** по вертикальной оси — продолжительность бега животного, выраженная в минутах; по горизонтальной оси — номер этапа эксперимента; ряд — номер животного.

**Fig. 3.** Results shown by males at all stages of the experiment.

**Note:** the vertical axis shows the duration of the animal's run, expressed in minutes; the horizontal axis shows the number of the experiment stage; the row is the number of the animal.



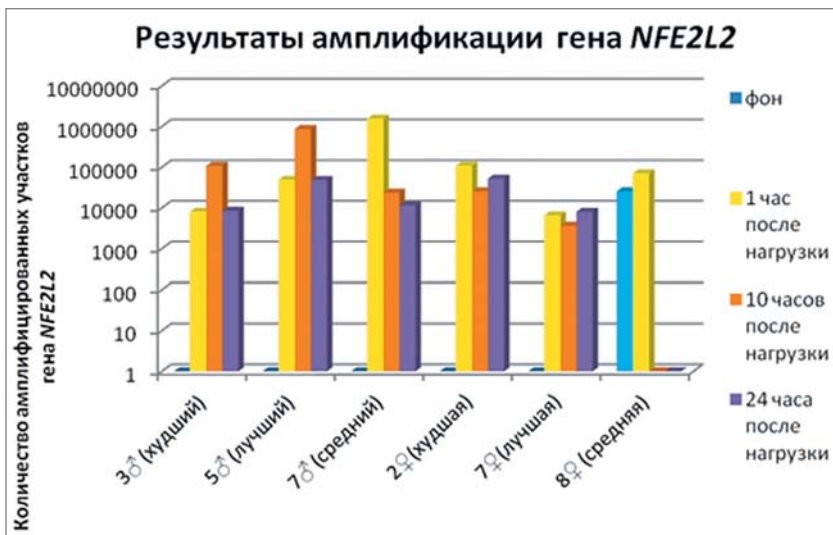
**Рис. 4.** Результаты, показанные самками на всех этапах эксперимента.

**Примечание:** по вертикальной оси — продолжительность бега животного, выраженная в минутах; по горизонтальной оси — номер этапа эксперимента; ряд — номер животного.

**Fig. 4.** Results shown by females at all stages of the experiment.

**Note:** the vertical axis shows the duration of the animal's run, expressed in minutes; the horizontal axis shows the number of the experiment stage; the row is the number of the animal.





**Рис. 5.** Графическое сравнение результатов ПЦР в реальном времени гена *NFE2L2* у экспериментальных групп животных.

**Примечание:** по горизонтальной оси обозначены особи, показавшие худший/лучший/средний результат при физических нагрузках (согласно табл. 4); по вертикальной оси — количество амплифицированных участков исследуемого гена, выраженное в десятичном логарифме (число копийных фрагментов гена, см. табл. 7).

**Fig. 5.** Graphical comparison of real-time PCR results of the *NFE2L2* gene in experimental animal groups.

**Note:** the horizontal axis indicates the individuals who showed the worst/best/average results during physical activity (the designation according to Table 4); the vertical axis indicates the number of amplified sections of the studied gene, expressed in decimal logarithm (the number of copy fragments of the gene, see Table 7).



**Рис. 6.** Сравнение результатов экспрессии гена *NFE2L2* среди самцов, показавших лучший, худший и средний результаты физических тренировок.

**Примечание:** обозначение «лучший, худший и средний» — согласно табл. 5; по вертикальной оси — количество амплифицированных участков исследуемого гена, по горизонтальной оси — временные точки взятия проб ДНК.

**Fig. 6.** Comparison of the results of the *NFE2L2* gene expression among males who showed the best, worst and average results during physical training.

**Note:** The designation “best, worst and average” according to Table 5; the vertical axis indicates the number of amplified sections of the studied gene, while the horizontal axis indicates the time points for taking DNA samples.

повторного синтеза АФК, которые они же сами запускают как крайне реакционно-способные частицы. Также именно в этот период происходит достижение в клетках максимальной концентрации молочной кислоты и пирувата, которые также пролонгируют воспалительные процессы и усиливают оксидативный стресс, что увеличивает потребность синтеза клеткой белка Nrf2.

Высокий уровень экспрессии гена *NFE2L2* в пробе, взятой через 1 ч после тренировки у самца, показавшего средний результат выносливости, можно объяснить, скорее всего, сильным стрессом, который животное могло испытать во время тренировки. Это обуславливается индивидуальным темпераментом и характером данной особи. В дальнейшем, согласно рис. 6, у данного животного уровень экспрессии исследуемого гена сильно падает из-за избыточной продукции белка в первые часы.

Согласно полученным результатам по морфологическому составу крови мини-свиней (табл. 7), у всех животных обоих полов наблюдается повышение количества эритроцитов после нагрузки. Максимальных значений этот показатель достигает через 24 ч после физической нагрузки. Разница между данной точкой и исходным значением у хряков и у свинок составляет 10,1 и 9,9% соответственно. Через 48 ч после нагрузки наблюдается выравнивание данного показателя по отношению к фону. По тромбоцитам достоверных отличий нет, но прослежива-

ется тенденция к увеличению их количества через 4 ч у хряков и к 1-му ч — у свинок, затем наблюдается уменьшение. Разница по отношению к фоновым показателям не превышает 5–7%. Схожая динамика наблюдается в уровне лейкоцитов, имеется тенденция к повышению в максимальной точке — 4 ч после физической нагрузки, особенно заметна она у свинок. Разницы в лейкоцитарной формуле не отмечено.

Таким образом, физическая нагрузка у мини-свиней оказывает умеренное влияние на морфологический состав крови. Все показатели не выходят за пределы физиологической нормы.

Результаты биохимического анализа (табл. 8, 9) свидетельствуют о том, что после нагрузки как у хряков, так и у свинок отмечается снижение уровня глюкозы по сравнению с фоновыми показателями. Минимальные значения глюкозы выявлены через 1 ч. Так, у свинок снижение составляло более 40%, у хряков — более 25%. Постепенное повышение концентрации глюкозы в крови происходит начиная с 4-го часа. Динамика активности аспартатамино-трансферазы (АСТ) и креатинкиназы (КК) и у хряков, и у свинок идентична: максимальная активность достигается через 4 ч после физической нагрузки, затем идет снижение. У хряков разница между фоновым показателем и активностью АСТ спустя 4 ч составила 85%, у свинок — 162%. По КК — соответственно — 388 и 581%. Активность

**Таблица 7.** Морфологический состав крови мини-свиней  
**Table 7.** Morphological blood composition of mini-pigs

| Период               | Хряки                              |                                   |                                  | Свинки                             |                                   |                                  |
|----------------------|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
|                      | эритроциты,<br>10 <sup>12</sup> /л | тромбоциты,<br>10 <sup>9</sup> /л | лейкоциты,<br>10 <sup>9</sup> /л | эритроциты,<br>10 <sup>12</sup> /л | тромбоциты,<br>10 <sup>9</sup> /л | лейкоциты,<br>10 <sup>9</sup> /л |
| Фон                  | 7,0±0,15                           | 235±11,40                         | 10,4±0,43                        | 6,8±0,17                           | 212±6,87                          | 10,6±0,20                        |
| Сразу после нагрузки | 7,2±0,14                           | 239±11,20                         | 11,2±0,27                        | 6,9±0,17                           | 219±7,00                          | 10,9±0,24                        |
| 1 ч                  | 7,4±0,16                           | 243±11,50                         | 10,3±0,25                        | 7,1±0,14                           | 227±7,00                          | 11,0±0,29                        |
| 4 ч                  | 7,7±0,16                           | 249±11,00                         | 10,5±0,25                        | 7,4±0,15                           | 222±7,53                          | 11,2±0,18                        |
| 24 ч                 | 7,7±0,15                           | 236±10,81                         | 10,5±0,40                        | 7,4±0,14                           | 213±5,78                          | 10,8±0,12                        |
| 48 ч                 | 7,0±0,16                           | 236±11,28                         | 10,4±0,26                        | 6,8±0,10                           | 213±5,87                          | 10,6±0,22                        |

**Таблица 8.** Биохимические показатели крови у хряков

**Table 8.** Biochemical blood parameters of male pigs

| Период               | Глюкоза, ммоль/л | АЛТ, ед./л | АСТ, ед./л | ЛДГ, ед./л | Креатинин, мкмоль/л | КК, ед./л | Лактат, мг/дл |
|----------------------|------------------|------------|------------|------------|---------------------|-----------|---------------|
| Фон                  | 7,65±2,2         | 89,0±21,6  | 40,9±12,1  | 1112±221   | 89,6±16,7           | 305±188   | 79,3±30,9     |
| Сразу после нагрузки | 5,6±1,3          | 78,8±18,8  | 46,8±12,3  | 1059±357   | 83,6±16,6           | 627±278   | 60,2±16,0     |
| 1 ч                  | 5,6±0,6          | 85,3±23,1  | 59,4±11,6  | 1379±134   | 93,1±11,9           | 915±476   | 71,2±23,0     |
| 4 ч                  | 6,1±0,9          | 92,7±19,7  | 75,5±27,2  | 1463±337   | 82,2±6,7            | 1489±626  | 71,4±16,1     |
| 24 ч                 | 8,4±2,1          | 97,1±21,4  | 61,5±25,3  | 1422±189   | 80,6±10,5           | 1212±1030 | 79,8±45,9     |
| 48 ч                 | 6,9±0,8          | 93,9±20,5  | 51,3±16,3  | 1334±138   | 83,5±11,5           | 904±507   | 69,5±9,6      |

**Таблица 9.** Биохимические показатели крови у свинок

**Table 9.** Biochemical blood parameters of female pigs

| Период               | Глюкоза, ммоль/л | АЛТ, ед./л | АСТ, ед./л | ЛДГ, ед./л | Креатинин, мкмоль/л | КК, ед./л | Лактат, мг/дл |
|----------------------|------------------|------------|------------|------------|---------------------|-----------|---------------|
| Фон                  | 8,5±1,4          | 83,4±12,3  | 40,1±10,0  | 1345±890   | 107,3±17,3          | 464±291   | 96,1±12,8     |
| Сразу после нагрузки | 7,6±2,2          | 95,8±8,3   | 68,7±14,4  | 1776±259   | 107,2±21,4          | 1600±775  | 94,9±34,8     |
| 1 ч                  | 4,9±1,5          | 65,0±15,8  | 56,0±18,1  | 1245±382   | 73,9±8,8            | 1553±825  | 41,6±16,5     |
| 4 ч                  | 5,3±1,6          | 80,9±28,4  | 105,0±87,7 | 1753±752   | 70,6±11,2           | 3159±1602 | 47,0±10,6     |
| 24 ч                 | 5,8±1,2          | 83,2±10,6  | 77,0±35,7  | 1647±287   | 78,1±12,8           | 2522±1757 | 49,5±13,6     |
| 48 ч                 | 6,1±0,9          | 87,9±4,7   | 61,3±30,9  | 1466±247   | 84,3±20,5           | 1668±1080 | 65,7±13,7     |

аланинаминотрансферазы (АЛТ) не имела выраженной динамики. Отмечено снижение лактата у обоих полов, причем минимальные концентрации лактата пришлось на 1 ч после физической нагрузки у свинок и непосредственно после нагрузки — у хряков. Разница между фоновыми показателями и после нагрузки составила 31 и 32% соответственно. Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) у хряков показывала динамику, схожую с АСТ, и максимальная активность наблюдалась спустя 4 ч после нагрузки, что превышало фоновые показатели на 32%. Концентрация креатинина имела тенденцию к снижению после физической нагрузки. Фоновые показатели креатинина у свинок были выше, чем после нагрузки, во всех точках, у хряков — аналогично, за исключением 1-го часа, где отмечалось увеличение на 4%. Однако изменения всех представленных показателей не являются достоверными и не выходят за пределы физиологической нормы.

Таким образом, можно предположить, что показатели активности ферментов (АСТ, ЛДГ, КК) и количества субстратов (глюкозы, креатинина и лактата) в крови

мини-свиней могут служить индикаторами интенсивности нагрузки, а также работоспособности, тренированности и общего физического состояния животных.

## Выводы

1. Воспроизведены естественные условия оксидативного стресса в клетках исследуемых особей мини-пигов.

2. С помощью базы NCBA собран биоинформационный анализ последовательностей гена *NFE2L2* мини-пигов, специфичных для отбора наиболее перспективных нуклеотидных последовательностей для использования в синтезе праймеров и флюоресцирующего зонда.

3. Результаты исследования свидетельствуют о том, что ген *NFE2L2*, кодирующий фактор транскрипции Nrf2, активно экспрессируется в ответ на оксидативный стресс в клетках организма животных.

4. Наибольшего пика уровень экспрессии достигает у различных особей в период от одного до десяти часов после нагрузки (большинство испытуемых животных дали максимальный результат ПЦР по пробам,

взятым через 10 ч после нагрузки), возвращаясь к норме через сутки.

5. Подтверждено, что ген *NFE2L2* может служить оценочным критерием при проведении молекулярно-генетических исследований работоспособности и выносливости для индивидуального отбора по группам.

6. Физическая нагрузка оказывает умеренное влияние на морфологический состав крови мини-свиней. Биохимические показатели активности ферментов (АСТ,

ЛДГ, КК) и количества субстратов (глюкозы, креатинина и лактата) могут служить индикаторами интенсивности нагрузки, а также работоспособности, тренированности и общего физического состояния животных.

7. Ген *NFE2L2* рекомендован для изучения влияния фармацевтических препаратов на восстановительные свойства организма, при выборе возможных фармнутриентов, допустима экстраполяция исследований в отношении человека.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Чечушков А.В., Ткачев В.О. Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б. Участие редокс-чувствительной сигнальной системы Keap1/Nrf2/ARE в дифференцировке и активации Т-лимфоцитов. *Бюллетень СО РАМН*. 2012;32(5):21–27. [Chechushkov A.V., Tkachev V.O. Zenkov N.K., Men'shchikova E.B. Uchastie redoks-chuvstvitel'noj signal'noj sistemy Keap1/Nrf2/ARE v differencirovke i aktivacii T-limfocitov [The participation of the redox-sensitive Keap1/Nrf2/ARE signaling system in the differentiation and activation of T-lymphocytes]. *Bulletin of the Siberian Branch of the RAMS*. 2012;32(5):21–27. (In Russian)].
2. Bobilev I., Novik V., Levi I., Shpilberg O., Levy J., Sharoni Y., et al. The Nrf2 transcription factor is a positive regulator of myeloid differentiation of acute myeloid leukemia cells. *Cancer Biology & Therapy*. 2011;11: 317–329.
3. Halliwell B., Gutteridge M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, 2000.
4. Itoh K., Igarashi K., Hayashi N., Nishizawa M., Yamamoto M. Cloning and characterization of a novel erythroid cell-derived CNC family transcription factor heterodimerizing with the small Maf family proteins. *Mol. Cell Biol*. 1995;15(8):4184–4193.
5. Krötz F., Sohn H.Y., Gloe T., Zahler S., Riexinger T., Schiele T.M., et al. NAD(P)H oxidase-dependent platelet superoxide anion release increases platelet recruitment. *Blood*. 2002;100:917–924.
6. Sen C.K. The general case for redox control of wound repair. *Wound Repair and Regeneration*. 2003;11:431–438.
7. Surh Y., Lee J. Nrf2 as a novel molecular target for chemoprevention. *Cancer Lett*. 2005;224(2):1–84.
8. Sykietis G., Bohmann D. Keap1/Nrf2 signaling regulates oxidative stress tolerance and lifespan in *Drosophila*. *Dev Cell*. 2008;14(1):76–85.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

**Петрова Наталья Владимировна\***, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;  
e-mail: [m-sklad@yandex.ru](mailto:m-sklad@yandex.ru)

**Станкова Наталия Владимировна**, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;  
e-mail: [sinayva@yandex.ru](mailto:sinayva@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](mailto:scbmt@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](mailto:m-sklad@yandex.ru)

**Nataliya V. Stankova**, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
e-mail: [sinayva@yandex.ru](mailto:sinayva@yandex.ru)

**Слободенюк Владимир Владимирович**, к.б.н.,  
ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий  
Федерального медико-биологического агентства  
России»;  
**e-mail:** [prof-v-iprim@mail.ru](mailto:prof-v-iprim@mail.ru)

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

**Кулакова Мария Игоревна**, ФГБУН «Науч-  
ный центр биомедицинских технологий Фе-  
дерального медико-биологического агентства  
России»;  
**e-mail:** [maryvoronova91@mail.ru](mailto:maryvoronova91@mail.ru)

**Васильева Ирина Андреевна**, ФГБУН «На-  
учный центр биомедицинских технологий Фе-  
дерального медико-биологического агентства  
России»;  
**e-mail:** [rozhtul@mail.ru](mailto:rozhtul@mail.ru)

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

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

**Mariya I. Kulakova**, Scientific Center of Biomed-  
ical Technologies of the Federal Medical and Biolo-  
gical Agency of Russia;  
**e-mail:** [maryvoronova91@mail.ru](mailto:maryvoronova91@mail.ru)

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

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



## АНАЛИЗ РОЛИ ГАМКЕРГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ В РЕГУЛЯЦИИ РЕСПИРАТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПАРАФАЦИАЛЬНЫХ СТРУКТУР СТВОЛА МОЗГА У КРЫС

О.А. Ведясова<sup>1\*</sup>, Т.Е. Ковалева<sup>2</sup>, А.И. Будаев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет  
им. академика С.П. Королева»  
443086, Российская Федерация, Самара, Московское шоссе, д. 34

<sup>2</sup> ГБУЗ «Самарский областной клинический противотуберкулезный диспансер  
им. Н.В. Постникова»  
443068, Российская Федерация, Самара, ул. Ново-Садовая, д. 154

В острых экспериментах на наркотизированных уретаном взрослых крысах в условиях дыхания атмосферным воздухом неизмененного газового состава изучали изменения параметров спирограммы и биоэлектрической активности диафрагмы в ответ на микроинъекции агониста ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов мусцимола в регион ретротрапезиевидное ядро / парафациальная респираторная группа (РТЯ/пФРГ). Микроинъекции мусцимола в РТЯ оказывали на дыхание тормозное действие, которое развивалось достаточно быстро. У крыс снижались минутная вентиляция легких и объемная скорость инспираторного потока, что обеспечивалось в первую очередь изменением временных параметров дыхания, в т. ч. уменьшением его частоты. Реакциям внешнего дыхания соответствовало значительное увеличение длительности инспираторных залпов и менее выраженное уменьшение амплитуды осцилляций на электромиограмме (ЭМГ) диафрагмы. Микроинъекции раствора мусцимола в пФРГ также вызывали угнетение дыхания, однако снижение легочной вентиляции и объемной скорости инспираторного потока в данном случае было связано с преимущественным уменьшением дыхательного объема при незначительной пролонгации вдоха и выдоха. На ЭМГ диафрагмы при этом заметно уменьшалась амплитуда осцилляций в сочетании с небольшим увеличением длительности инспираторных залпов и межзалповых интервалов. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы включены в деятельность региона РТЯ/пФРГ и являются важным звеном центральных механизмов респираторного контроля у взрослых крыс при дыхании атмосферным воздухом неизмененного газового состава. При этом ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы РТЯ вносят преимущественный вклад в регуляцию фазовой структуры дыхательного цикла и частоты формирования инспираторных залпов диафрагмы, в то время как ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы пФРГ в большей степени участвуют в тормозной модуляции объемных параметров внешнего дыхания и амплитуды осцилляций диафрагмальной активности.

**Ключевые слова:** ретротрапезиевидное ядро, парафациальная респираторная группа, ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы, мусцимол, внешнее дыхание, электромиограмма диафрагмы

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

**Финансирование:** работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-29-14073.

**Для цитирования:** Ведясова О.А., Ковалева Т.Е., Будаев А.И. Анализ роли ГАМКергических механизмов в регуляции респираторной активности парафациальных структур ствола мозга у крыс. *Биомедицина*. 2020;16(1):56–64. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-56-64>

Поступила 05.10.2019

Принята после доработки 05.12.2019

Опубликована 10.03.2020

## ANALYSIS OF THE ROLE OF GABAERGIC MECHANISMS IN REGULATION OF THE RESPIRATORY ACTIVITY OF PARAFACIAL STRUCTURES OF THE BRAINSTEM IN RATS

Olga A. Vedyasova<sup>1,\*</sup>, Tatiana E. Kovaleva<sup>2</sup>, Alexander I. Budaev<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Samara National Research University  
443086, Russian Federation, Samara, Moscow highway, 34

<sup>2</sup> N.V. Postnikov Samara Region Clinical Tuberculosis Dispensary  
443068, Russian Federation, Samara, Novo-Sadovaya str., 154

Acute experiments on anesthetized adult rats breathing atmospheric air of constant gas composition were performed in order to assess changes in the parameters of the spirogram and the bioelectric activity of the diaphragm in response to microinjections of GABA<sub>A</sub>-agonist muscimol into the retrotrapezoid nucleus/parafacial respiratory group (RTN/pFRG) region. Microinjections of muscimol into RTN had an inhibitory effect on respiration, which developed sufficiently quickly. The rats demonstrated a decrease in the respiratory minute volume and the inspiratory flow rate, which occurred primarily due to a change in the temporal parameters of respiration, including its reduced frequency. The reactions of external respiration corresponded to a significant increase in the duration of inspiratory bursts and a less pronounced decrease in the amplitude of oscillations on the electromyogram (EMG) of the diaphragm. Microinjections of muscimol into pFRG also caused respiratory depression; however, a decrease in the lung ventilation and inspiratory flow rate was associated predominantly with a decrease in the tidal volume and a slight prolongation of inspiration and expiration. In this case, the diaphragm EMG showed a pronounced decrease in the oscillation amplitude in combination with a slight increase in the duration of inspiratory bursts and interburst intervals. The obtained experimental data indicate that GABA<sub>A</sub>-receptors contribute to the activity of the RTN/pFRG region and constitute an important link in the central mechanisms of respiratory control in mammals breathing atmospheric air of unchanged gas composition. Thus, GABA<sub>A</sub>-receptors of RTN make a significant contribution to regulation of the phase structure of the respiratory cycle and the frequency of diaphragmatic inspiratory bursts, while GABA<sub>A</sub>-receptors of pFRG are more involved in the inhibitory modulation of the volumetric parameters of external respiration and the amplitude of diaphragmatic activity oscillations.

**Keywords:** parafacial respiratory group, retrotrapezoid nucleus, GABA<sub>A</sub>-receptors, external respiration, electromyogram of the diaphragm

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

**Funding:** the work was carried out under the support of the RFBR grant No. 18-29-14073.

**For citation:** Vedyasova O.A., Kovaleva T.E., Budaev A.I. Analysis of the Role of GABAergic Mechanisms in Regulation of the Respiratory Activity of Parafacial Structures of the Brainstem in Rats. *Journal Biomed.* 2020;16(1):56–64. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-56-64>

Submitted 05.10.2019

Revised 05.12.2019

Published 10.03.2020

### Введение

ГАМКергическая система играет важную роль в центральных механизмах регуляции дыхания, что доказывается экспериментальными и клиническими данными. Так, у млекопитающих животных ГАМКергические терминалы обнаружены во всех отделах дыхательного центра, в т. ч. в ростральной

вентролатеральной медуллярной области, нейроны которой имеют критическое значение для формирования дыхательной ритмики [5, 15]. В опытах с блокадой и активацией разных классов ГАМК-рецепторов ядер дыхательного центра у крыс выявлены разнообразные изменения ритма и паттерна дыхания [19, 20], вплоть до развития его

патологических форм [3]. В экспериментах на генетических линиях мышей с мутантными субъединицами ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов показано, что нарушение ГАМКергической трансмиссии в связанных с дыханием ядрах мозгового ствола, включая ядро солитарного тракта, комплекс пре-Бетцингера и ядро Келликера — Фьюза, вызывает кардиореспираторный коллапс при синдроме внезапной смерти при эпилепсии [21]. Нарушение ГАМКергической передачи в головном мозге также является одной из причин возникновения обструктивного апноэ [13].

В последние годы объектом внимания специалистов в области нейрофизиологии и нейрохимии дыхания являются ГАМКергические механизмы региона ретротрапециевидное ядро / парафациальная респираторная группа (РТЯ/пФРГ), локализованного ростральнее комплекса Бетцингера и вентральнее моторного ядра лицевого нерва в непосредственной близости к вентральной поверхности продолговатого мозга [6, 14]. Интерес к РТЯ/пФРГ обусловлен наличием здесь центральных хеморецепторов [12] и преинспираторных ритмогенерирующих нейронов [14], а также высокой плотностью терминалей, выделяющих разнообразные эндогенные регуляторы [10], включая ГАМК. Показано, что реализация респираторных эффектов ГАМК на уровне РТЯ/пФРГ опосредуется ГАМК<sub>A</sub>-рецепторами, роль которых изучалась преимущественно в условиях гиперкапнии и гипоксии [4]. Например, выявлено, что на фоне гиперкапнии двусторонние микроинъекции в РТЯ/пФРГ антагонистов ГАМКергической передачи запускают активную экспирацию, на что указывает характер электромиограммы абдоминальных мышц, а также меняют длительность дыхательного цикла и глубину дыхания [15]. Модулирующее влияние ГАМКергических механизмов РТЯ/пФРГ на респираторную активность при нормоксии изучено в меньшей степени [11]. Кроме того, не решен вопрос о том, являются

ли РТЯ и пФРГ как структуры парафациального региона идентичными в функциональном плане или оказывают на дыхание различное влияние.

**Целью** настоящей работы являлась сравнительная характеристика роли ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов ретротрапециевидного ядра (РТЯ) и парафациальной респираторной группы (пФРГ) в центральных механизмах респираторного контроля у крыс при дыхании атмосферным воздухом неизмененного газового состава.

## Материалы и методы

Поставлены две серии острых экспериментов на нелинейных крысах обоего пола массой 250–300 г (возраст 6–7 мес.). До эксперимента животные содержались в стандартных условиях вивария, имели свободный доступ к корму и воде. Температура воздуха в помещении поддерживалась на уровне 18–22 °С при относительной влажности 60–70%. Все эксперименты и процедуры на животных проводили в соответствии с «Правилами надлежащей лабораторной практики», утвержденными приказом Минздрава России № 199н от 01.04.2016 г. Крыс наркотизировали уретаном (1,5 г/кг, внутривенно). В ходе операции, к которой приступали после достижения должной глубины наркоза, о чем судили по отсутствию роговичного и болевого рефлексов, проводили трахеостомию, обнажали крышу черепа и открывали подход к диафрагмальной мышце через разрез на левом боку животного. Затем крысу переносили в стереотаксический прибор для мелких лабораторных животных СЭЖ-3, фиксировали голову и высверливали трепанационное отверстие в окципитальной кости для осуществления микроинъекций в РТЯ (первая серия,  $n=8$ ) и пФРГ (вторая серия,  $n=8$ ). Тепловое состояние животных поддерживали с помощью электрогрелки. Для микроинъекций ис-

пользовали раствор специфического агониста ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов мусцимола (Sigma Aldrich) концентрацией  $10^{-6}$  М. Раствор готовили методом разведения в искусственной спинномозговой жидкости *ex tempore* и вводили в пФРГ и РТЯ унилатерально в объеме 200 нл через стеклянную канюлю с диаметром кончика 20–25 мкм при помощи микрошприца МШ-1. Введение мусцимола осуществляли по стереотаксическим координатам: РТЯ — 2,2 мм каудальнее *lambda*; 1,8 мм латеральнее срединного шва; 10,6 мм вглубь от дорсальной поверхности мозга [12]; пФРГ — 11,3 мм каудальнее *bregma*; 2,3 мм латеральнее срединного шва; 9,4 мм вглубь от дорсальной поверхности мозга [9].

Регистрировали внешнее дыхание с помощью электронного спирографа (ИМЦ «Новые приборы», Россия), подсоединенного к трахеотомической трубке, и электромиограмму (ЭМГ) диафрагмальной мышцы, которую отводили стальными биполярными электродами (межэлектродное расстояние 4 мм), соединенными с усилителем электромиографа (ИМЦ «Новые приборы», Россия). Выходные сигналы от спирографа и электромиографа подавались на аналогово-цифровой преобразователь, затем на компьютер и записывались в программе PowerGraph 3.2 Professional (ООО «Интероптика-С»). Запись велась непрерывно в исходном состоянии и в течение 60-ти мин после микроинъекции. По спирограммам оценивали минутный объем дыхания (МОД, мл/мин), дыхательный объем (мл), длительность вдоха (с) и выдоха (с), объемную скорость инспираторного потока ( $\dot{V}_i$ , мл/с), частоту дыхания (ЧД, мин<sup>-1</sup>). На ЭМГ диафрагмы определяли длительность инспираторных залпов (с), межзалповые интервалы (с), амплитуду осцилляций в залпах (отн. ед.).

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили в программе SigmaPlot 12.5 (Systat Software Inc.). Использовали Normality Test Shapiro —

Wilk, Paired t-test и Wilcoxon Signed Rank Test. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты и их обсуждение

Изменения дыхания в ответ на микроинъекции ГАМК<sub>A</sub>-агониста мусцимола в РТЯ и пФРГ крыс характеризовались как общими тенденциями, так и определенными особенностями. Основное сходство заключалось в том, что активация ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов обоих ядер вызывала угнетение дыхания в виде снижения легочной вентиляции, о чем свидетельствует динамика МОД (рис. 1А). Данный эффект формировался быстро, в течение первых минут экспозиции агониста. Вместе с тем при действии мусцимола на РТЯ уменьшение МОД у крыс начиналось с 1-й мин после микроинъекции, на 5-й мин составляло 19,3% ( $p < 0,05$ ) от исходного уровня ( $79,2 \pm 11,5$  мл/мин) и затем достигало 24,9% ( $p < 0,05$ ) на 50–60-й мин. Снижение МОД при активации ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов пФРГ проявлялось с 5-й мин от начала воздействия агониста, причем в эти сроки уже достигался максимальный эффект — уменьшение на  $12,7 \pm 3,2$  мл/мин, или 25,9% ( $p < 0,01$ ) от исходного уровня ( $44,8 \pm 3,9$  мл/мин). Этот эффект сохранялся до 10-й мин, далее ослаблялся, а после 40-й мин действие мусцимола на респираторную активность пФРГ прекращалось.

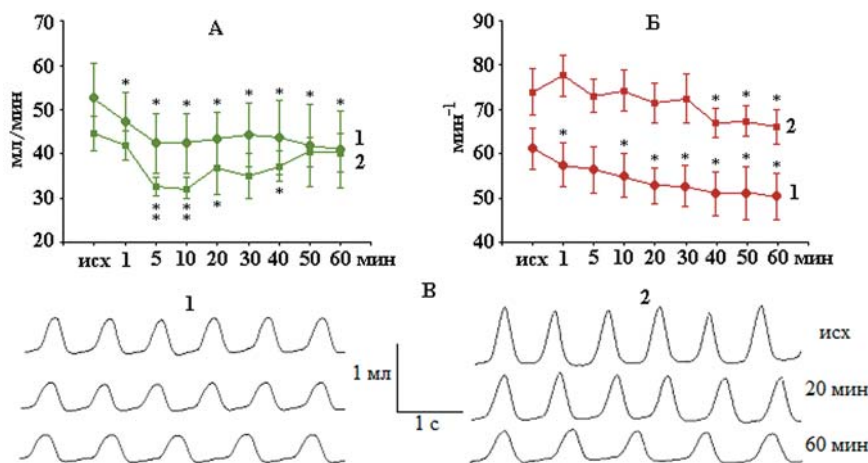
Наблюдаемые изменения внешнего дыхания соответствуют результатам других исследований, в которых проводились инъекции агонистов и антагонистов ГАМК в парафациальный регион мозгового ствола. В этих работах показано, что локальное введение мусцимола в РТЯ при дыхании нормальным воздухом ослабляет вентиляцию легких [18], а блокада ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов пФРГ бикакуллином в этих условиях, напротив, стимулирует дыхание [1]. Относительно короткие латентные периоды тормозных респиратор-

ных реакций на введение мусцимола в РТЯ и пФРГ, вероятно, определяются механизмами активации ионотропных ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов. Мусцимол как конкурентный агонист эндогенной ГАМК взаимодействует с субъединицами рецептора, вызывая открытие хлорных каналов и быстрое развитие гиперполяризации мембраны нейронов с последующим торможением их активности [2].

Уменьшение МОД у крыс при воздействии мусцимола на РТЯ и пФРГ определялось изменениями как временных, так и амплитудных параметров паттерна дыхания. В случае активации ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов РТЯ более значимый вклад в изменение МОД вносила ЧД (рис. 1Б), которая после микроинъекции агониста уменьшалась, но особенно заметно на 40–60-й мин, что соответствовало 16,8% ( $p < 0,05$ ) от исходного уровня ( $61,1 \pm 4,7 \text{ мин}^{-1}$ ). Изменения ЧД были связаны с увеличением времени обеих фаз дыхательного цикла. При этом вдох пролонгировался с нарастанием эффекта от 1-й мин (11,3%;  $p < 0,001$ ) вплоть

до 50-й мин (22,4%;  $p < 0,05$ ). Значимые изменения длительности выдоха отмечались после 20-й мин экспозиции, были более выраженными по сравнению с фазой вдоха и достигали 27,5% ( $p < 0,05$ ) от исходного уровня ( $0,59 \pm 0,04 \text{ с}$ ). При активации ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов пФРГ ЧД менялась менее закономерно (рис. 1Б), а отмечаемое изменение МОД преимущественно было связано с уменьшением дыхательного объема, который с 1-й по 10-ю мин регистрации снижался от исходной величины ( $0,61 \pm 0,03 \text{ мл}$ ) на 10,5–25,4% ( $p < 0,01$ ). Иллюстрацией особенностей изменений дыхательного объема при воздействии ГАМК<sub>A</sub>-агониста на РТЯ и пФРГ служат спирограммы, записанные в ходе эксперимента (рис. 1В).

Отражением вклада ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов РТЯ и пФРГ в тормозную модуляцию внешнего дыхания и механизмы формирования центральной инспираторной активности служит уменьшение объемной скорости инспираторного потока ( $\dot{V}_i$ ) на фоне действия мусцимола. При введении агониста в РТЯ уменьшение  $\dot{V}_i$  отмечалось на протяжении



**Рис. 1.** Изменения минутного объема дыхания (А), частоты дыхания (Б) и абриса спирограмм (В) у крыс после микроинъекций  $10^{-6} \text{ M}$  раствора мусцимола в РТЯ (1) и пФРГ (2). Статистически значимые различия с исходным уровнем: \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  (Paired  $t$ -test).

**Fig. 1.** Changes in the minute respiratory volume (А), respiratory rate (Б) and spirograms (В) in rats after microinjections of a  $10^{-6} \text{ M}$  solution of muscimol into RTN (1) and pFRG (2). Statistically significant differences from the baseline: \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  (Paired  $t$ -test).

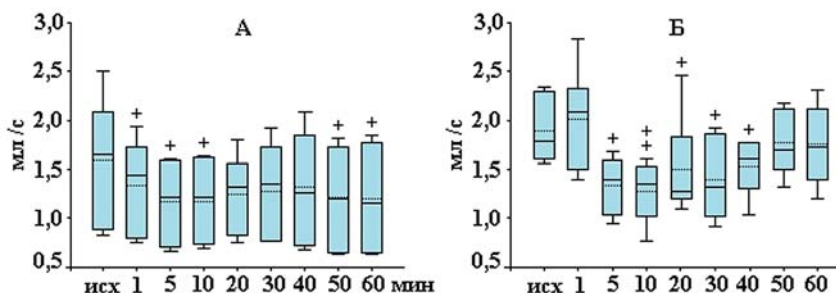


всей экспозиции с нарастанием эффекта к ее концу (рис. 2А). Так, на 1-й мин наблюдений  $\dot{V}_i$  снижалась на 13,7% ( $p<0,05$ ), на 60-й — на 24,5% ( $p<0,05$ ) от исходного уровня ( $3,2\pm0,5$  мл/с), что было связано со значительным увеличением длительности инспирации. При локальном введении мусцимола в пФРГ среднее значение  $\dot{V}_i$  менялось сильнее, причем наибольшее снижение (на 29,3–32,4%;  $p<0,01$ ) от исходного уровня ( $1,9\pm0,1$  мл/с) отмечалось в течение первых 10-ти мин экспозиции, после чего эффект ослабевал (рис. 2Б). В данном случае изменения  $\dot{V}_i$  определялись в основном уменьшением дыхательного объема и менее зависели от длительности вдоха.

Реакции внешнего дыхания на микроинъекции мусцимола в изучаемые структуры мозгового ствола сопровождались изменениями биоэлектрической активности диафрагмальной мышцы. При активации ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов обоих ядер у крыс отмечались похожие эффекты в виде увеличения временных параметров ЭМГ диафрагмы и снижения амплитуды ее осцилляций. Однако введение мусцимола в РТЯ вызывало более значительное удлинение инспираторных залпов на ЭМГ диафрагмы, причем данный эффект формировался с коротким

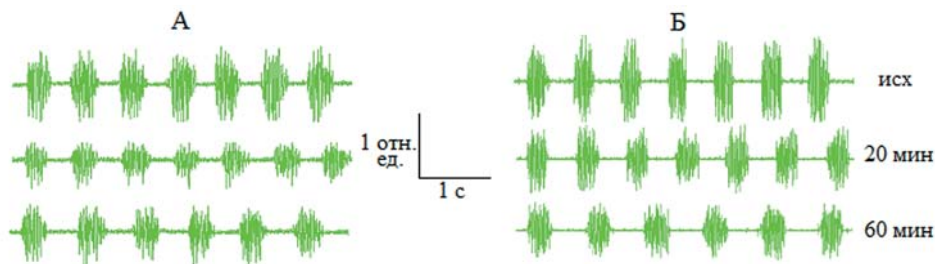
латентным периодом. Уже на 1-й мин эксперимента прирост длительности залпов составлял 9,4% ( $p<0,01$ ), а на 40-й мин — 20,1% ( $p<0,05$ ) от исходного уровня ( $0,43\pm0,05$  с). Интервалы между залпами диафрагмальной активности, соответствующие экспираторной фазе, в ответ на введение мусцимола в РТЯ также существенно увеличивались, причем наиболее значимый результат (продлонгация на 26,0%;  $p<0,05$ ) был зарегистрирован в отставленные сроки наблюдений, что совпадало с увеличением времени выдоха. Микроинъекции агониста ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов в пФРГ, напротив, оказывали менее выраженное влияние на временные параметры ЭМГ диафрагмальной мышцы. Как и в случае РТЯ, эти реакции усиливались по ходу экспозиции, однако на момент максимальных отклонений прирост длительности залпов не превышал 16,7% ( $p<0,05$ ) от исходного уровня ( $0,35\pm0,03$  с), а увеличение межзалповых интервалов составляло в среднем 11,3% ( $p<0,05$ ) относительно исходного значения ( $0,51\pm0,04$  с).

Изменения амплитуды осцилляций в залпах биоэлектрической активности диафрагмы при микроинъекциях ГАМК<sub>A</sub>-агониста в РТЯ и пФРГ соответствовали



**Рис. 2.** Изменения объемной скорости инспираторного потока у крыс после микроинъекций  $10^{-6}$  М раствора мусцимола в РТЯ (А) и пФРГ (Б). Статистически значимые различия с исходным уровнем: + —  $p<0,05$ ; ++ —  $p<0,01$  (Wilcoxon Signed Rank Test). На боксах пунктирной линией отражены средние значения, сплошной — медианы.

**Fig. 2.** Changes in the volumetric rate of the inspiratory flow after microinjections of a  $10^{-6}$  M solution of muscimol into RTN (A) and pFRG (B) in rats. Statistically significant differences from the baseline: + —  $p<0,05$ ; ++ —  $p<0,01$  (Wilcoxon Signed Rank Test). On the boxes, the dashed line and the solid line show the average values and medians, respectively.



**Рис. 3.** Изменение биоэлектрической активности диафрагмы у крыс после микроинъекции  $10^{-6}$  М раствора мусцимола в РТЯ (А) и пФРГ (Б).

**Fig. 3.** Changes in the bioelectric activity of the diaphragm after a microinjection of a  $10^{-6}$  M solution of muscimol into RTN (A) and pFRG (B) in rats.

уменьшению дыхательного объема. При этом в ответ на введение мусцимола в РТЯ значимое снижение амплитуды осцилляций, по сравнению с исходной величиной ( $0,29 \pm 0,06$  отн. ед.), отмечалось на 15-й мин ( $9,6\%$ ;  $p < 0,05$ ), а в случае пФРГ — с 10-й по 30-ю мин и составляло в среднем  $13,3\%$  ( $p < 0,05$ ) от исходного уровня ( $0,21 \pm 0,03$  отн. ед.). Примеры реакций диафрагмы на активацию ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов РТЯ и пФРГ представлены на рис. 3. Отмечаемая нами картина изменений ЭМГ диафрагмы согласуется с литературными данными об уменьшении частоты и амплитуды разрядов диафрагмальной мышцы в ответ на аппликацию мусцимола в РТЯ/пФРГ крыс после предшествующей гиперкапнии и гипоксии [17].

Характер изменений частотных и амплитудных параметров спирограммы и ЭМГ диафрагмы у крыс при активации ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов РТЯ и пФРГ следует оценивать с учетом особенностей нейронального состава и различной функциональной роли изучаемых структур ростральной вентролатеральной медуллы в регуляции дыхания. Например, в области РТЯ наиболее широко представлены нейроны, реагирующие на изменение уровня  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}^+$  в ликворе, что определяет решающее значение этого ядра в процессах центральной хеморецепции [8]. Для формирования хеморецепторного ответа особенно важны Phox2b-

нейроны РТЯ, посылающие проекции к различным отделам дыхательного центра и участвующие в регуляции длительности инспирации и экспирации [4]. Кроме того, нейроны РТЯ имеют связи с ядром Келликера — Фьюза, функцией которого является регуляция продолжительности дыхательного цикла [16]. Эти данные служат одним из объяснений наших результатов, в частности того, что при стимуляции ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов РТЯ мусцимолом у крыс формируется тормозное влияние преимущественно на частоту дыхания.

Что касается пФРГ, то благодаря наличию преинспираторных нейронов [14] ее рассматривают как один из возможных осцилляторов дыхания, который наряду с комплексом пре-Бетцингера обеспечивает генерацию респираторного ритма. Также имеются основания говорить о пФРГ как о возможном генераторе активной экспирации [9, 15], которая в условиях гиперкапнии осуществляется за счет присутствующих в этом отделе E2 экспираторных нейронов [7]. Эти данные согласуются с нашими результатами, согласно которым активация ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов пФРГ у крыс оказывает выраженное влияние на экспираторную фазу и в условиях дыхания атмосферным воздухом неизмененного газового состава.

Уменьшение дыхательного объема (глубины дыхания), более характерное для ак-

тивации ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов пФРГ, можно объяснить наличием в ней респираторных нейронов, взаимодействующих с различными областями дыхательного центра, участвующими в формировании не только ритма, но и паттерна дыхания. В частности, пФРГ связана с комплексом пре-Бетцингера, который является основным скоплением преинспираторных пейсмейкерных нейронов [22], с экспираторными нейронами комплекса Бетцингера [7], а также с вентральной респираторной группой [17], контролирующей ритмическую активность спинальных мотонейронов дыхательных мышц и силу их сокращений.

## Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что у крыс при дыхании атмосферным воздухом неизменно-го газового состава ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы региона РТЯ/пФРГ являются важным звеном центральных механизмов респираторного контроля. Селективная ак-

тивация ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов на уровне РТЯ и пФРГ в указанных условиях вызывает закономерное угнетение внешнего дыхания и биоэлектрической активности диафрагмальной мышцы. При этом ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы РТЯ преимущественно вовлечены в механизмы, регулирующие по тормозному типу временные параметры дыхания, в т. ч. фазовую структуру дыхательного цикла и частоту инспираторных залповых разрядов диафрагмы. Что касается ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов пФРГ, то они в большей степени участвуют в тормозной модуляции объемных параметров внешнего дыхания и амплитуды залповой активности диафрагмы. С учетом установленных фактов допустимо считать, что ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы парафациальных структур ростральной вентролатеральной медуллы вносят различный вклад в генетически детерминированные механизмы регуляции ритма и паттерна дыхания, и рассматривать РТЯ и пФРГ как самостоятельные отделы центральной респираторной нейросети.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Ведясова О.А., Ковалева Т.Е. Роль ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов парафациальной респираторной группы в регуляции дыхания у крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018;165(6):664–668. [Vedyasova O.A., Kovaleva T.E. Rol' GAMKA-retseptorov parafatsial'noy respiratornoy gruppy v regulyatsii dykhaniya u kryss. [Role of GABA<sub>A</sub>-receptors of parafacial respiratory group in control of respiration in rats]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]*. 2018;165(6):664–668. (In Russian)].
2. Калуев А.В. Как организован хлорный ионофор ГАМК<sub>A</sub>-рецептора? *Нейронауки. Теоретические и клинические аспекты*. 2006;3:31–42. [Kaluyev A.V. Kak organizovan khlornyy ionofor GAMKA-retseptora? [How is the GABA<sub>A</sub> receptor chlorine ionophore organized?]. *Neyronauki. Teoreticheskiye i klinicheskiye aspekty [Neuroscience. Theoretical and clinical aspects]*. 2006;3:31–42. (In Russian)].
3. Тараканов И.А., Сафонов В.А. ГАМКергическая система и ее значение для регуляции дыхания. *Физиология человека*. 1998;24(5):116–128. [Tarakanov I.A., Safonov V.A. GAMKergicheskaya sistema i yeye znachenie dlya regulyatsii dykhaniya. [The GABA-ergic system and its importance for regulating respiration]. *Fiziologiya cheloveka. [Human physiology]*. 1998;24(5):116–128. (In Russian)].
4. Abbott S.B., Stornetta R.L., Coates M.B., Guyenet P.G. Phox2b-expressing neurons of the parafacial region regulate breathing rate, inspiration, and expiration in conscious rats. *J. Neurosci*. 2011;31(45):16410–16422.
5. Bongianni F., Mutolo D., Cinelli E., Pantaleo T. Respiratory responses induced by blockades of GABA and glycine receptors within the Bötzing complex and the pre-Bötzing complex of the rabbit. *Brain Res*. 2010;1344:134–147.
6. Cream C., Li A., Nattie E. The retrotrapezoid nucleus (RTN): local cytoarchitecture and afferent connections. *Respir. Physiol. Neurobiol*. 2002;130:121–137.
7. Fortuna M.G., West G.H., Stornetta R.L., Guyenet P.G. Bötzing expiratory-augmenting neurons and the parafacial respiratory group. *J. Neurosci*. 2008;28(10):2506–2515.
8. Guyenet P., Bayliss D., Stornetta R., Ludwig M.G., Kumar N.N., Shi Y., et al. Proton detection and breathing regulation by the retrotrapezoid nucleus. *J. Physiol*. 2016;594(6):1529–1551.

9. Huckstepp R.T.R., Cardoza K.P., Henderson L.E., Feldman J.L. Role of parafacial nuclei in control of breathing in adult rats. *J. Neurosci.* 2015;35(3):1052–1067.
10. Joubert F., Loiseau C., Perrin-Terrin A.S., Cayetanot F., Frugière A., Voituron N., et al. Key brainstem structures activated during hypoxic exposure in one-day-old mice highlight characteristics for modeling breathing network in premature infants. *Front. Physiol.* 2016;7:609.
11. Kanbar R., Stornetta R.L., Cash D.R., Lewis S.J., Guyenet P.G. Photostimulation of Phox2b medullary neurons activates cardiorespiratory function in conscious rats. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 2010;182(9):1184–1194.
12. Li A., Nattie E. CO<sub>2</sub> dialysis in one chemoreceptor site, the RTN: stimulus intensity and sensitivity in the awake rat. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2002;133:11–22.
13. Macey P.M., Sarma M.K., Nagarajan R., Aysola R., Siegel J.M., Harper R.M., et al. Obstructive sleep apnea is associated with low GABA and high glutamate in the insular cortex. *J. Sleep Res.* 2016;25(4):390–394.
14. Onimaru H., Homma I. Point: Counterpoint: The parafacial respiratory group (pFRG)/pre-Bötzinger complex (preBötC) is the primary site of respiratory rhythm generator in the mammal. *J. Appl. Physiol.* 2006;100:2094–2098.
15. Pagliardini S., Janczewski W.A., Tan W., Dickson C.T., Deisseroth K., Feldman J.L. Active expiration induced by excitation of ventral medulla of adult anesthetized rats. *J. Neurosci.* 2011;31(8):2895–2905.
16. Silva J.N., Lucena E.V., Silva T.M., Damasceno R.S., Takakura A.C., Moreira T.S. Inhibition of the pontine Kölliker-Fuse nucleus reduces genioglossal activity elicited by stimulation of the retrotrapezoid chemoreceptor neurons. *Neuroscience.* 2016;328:9–21.
17. Silva J.N., Tanabe F.M., Moreira T.S., Takakura A.C. Neuroanatomical and physiological evidence that the retrotrapezoid nucleus/parafacial region regulates expiration in adult rats. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2016;227:9–22.
18. Takakura A.C., Moreira T.S., Colombari E., West G.H., Stornetta R.L., Guyenet P.G. Peripheral chemoreceptor inputs to retrotrapezoid nucleus (RTN) CO<sub>2</sub>-sensitive neurons in rats. *J. Physiol.* 2006;572(Pt.2):503–523.
19. Vedyasova O.A., Kovalyov A.M. Respiratory responses to microinjections of GABA and penicillin into various parts of the ventral respiratory group. *Bull. Experim. Biol. Med.* 2012;153(2):173–176.
20. Vedyasova O.A., Man'shina N.G., Safonov V.A., Tarakanov I.A. Respiratory reactions to microinjection of GABA and baclofen into the Betzinger and pre-Betzinger complexes in rats. *J. Neurosci. Behav. Physiol.* 2014;44(2):231–237.
21. Xia G., Pourali S., Warner T.A., Zhang C.Q., Macdonald R.L., Kang J.Q. Altered GABAA receptor expression in brainstem nuclei and SUDEP in Gabrg2(+/-Q390X) mice associated with epileptic encephalopathy. *Epilepsy Res.* 2016;123:50–54.
22. Yang C.F., Feldman J.L. Efferent projections of excitatory and inhibitory preBötzinger complex neurons. *J. Comp. Neurol.* 2018;526(8):1389–1402.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Ведаева Ольга Александровна\***, д.б.н., проф., ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева»;  
e-mail: [o.a.vedyasova@gmail.com](mailto:o.a.vedyasova@gmail.com)

**Ковалева Татьяна Евгеньевна**, ГБУЗ «Самарский областной клинический противотуберкулезный диспансер им. Н.В. Постникова»;  
e-mail: [kovalova.t.e@gmail.com](mailto:kovalova.t.e@gmail.com)

**Будаев Александр Иванович**, ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева»;  
e-mail: [budaev.sasha@mail.ru](mailto:budaev.sasha@mail.ru)

**Olga A. Vedyasova\***, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Samara National Research University;  
e-mail: [o.a.vedyasova@gmail.com](mailto:o.a.vedyasova@gmail.com)

**Tatiana E. Kovaleva**, N.V. Postnikov Samara Region Clinical Tuberculosis Dispensary;  
e-mail: [kovalova.t.e@gmail.com](mailto:kovalova.t.e@gmail.com)

**Alexandr I. Budaev**, Samara National Research University;  
e-mail: [budaev.sasha@mail.ru](mailto:budaev.sasha@mail.ru)

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-65-81>



## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ БИМОДЕЛИРОВАНИЕ НПВС-ИНДУЦИРОВАННОГО ЭНТЕРОКОЛИТА

Р.А. Клёсов<sup>1\*</sup>, В.Н. Каркищенко<sup>1</sup>, О.И. Степанова<sup>1</sup>, О.В. Баранова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий

Федерального медико-биологического агентства России»

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

<sup>2</sup> ФГАУ «Лечебно-реабилитационный центр» Минздрава России

125367, Российская Федерация, Москва, Ивановское ш., д. 3

Одним из факторов развития заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), описанных в литературе, является приём нестероидных противовоспалительных средств (НПВС). Энтероколит является частым осложнением приема НПВС. Экспериментальное моделирование заболеваний ЖКТ, максимально приближенных по происхождению и механизму развития соответствующего заболевания у человека, является актуальной проблемой современной медицины. В работе представлены результаты сравнительного экспериментального биомоделирования НПВС-индуцированного энтероколита у лабораторных крыс. Установлено, что при внутрижелудочном введении ацетилсалициловой кислоты у животных выявлены лишь повреждения желудка. Введение декскетопрофена как пероральным способом, так и внутримышечным вызывает эрозивно-язвенные повреждения желудка и кишечника. Развитие повреждений не зависит от способа введения препарата. Впервые представлены результаты биомоделирования энтероколита при помощи декскетопрофена.

**Ключевые слова:** биомодель, энтероколит, НПВС, крысы

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

**Для цитирования:** Клёсов Р.А., Каркищенко В.Н., Степанова О.И., Баранова О.В. Сравнительное экспериментальное биомоделирование НПВС-индуцированного энтероколита. *Биомедицина*. 2020;16(1):65–81. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-65-81>

Поступила 05.09.2019

Принята после доработки 20.01.2020

Опубликована 10.03.2020

## COMPARATIVE EXPERIMENTAL BIOMODELLING OF NSAID-INDUCED ENTEROCOLITIS

Roman A. Klesov<sup>1,\*</sup>, Vladislav N. Karkischenko<sup>1</sup>, Olga I. Stepanova<sup>1</sup>, Oxana V. Baranova<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> Treatment and Rehabilitation Center of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation  
125367, Russian Federation, Moscow, Ivan'kovskoe highway, 3

Use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) is considered to be a factor in the development of gastrointestinal tract (GIT) diseases. Thus, enterocolitis is a frequent complication of NSAIDs. Experimental modelling of GIT diseases in laboratory animals, which describes the origin and mechanism of the corresponding disease in humans with maximal precision, is an urgent problem of modern medicine. This paper presents the results of comparative experimental biomodelling of NSAID-induced enterocolitis in



laboratory rats. It was found that the intragastric administration of acetylsalicylic acid resulted mainly in stomach damage. The introduction of dexametopfen — both orally and intramuscularly — causes erosive and ulcerative lesions of the stomach and intestines. The type of damage showed no correlation with the type of administration. For the first time, the results of enterocolitis biomodelling using dexametopfen are presented.

**Keywords:** biomodel, enterocolitis, NSAID, rats

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

**For citation:** Klesov R.A., Karkischenko V.N., Stepanova O.I., Baranova O.V. Comparative Experimental Biomodelling of NSAID-induced Enterocolitis. *Journal Biomed.* 2020;16(1):65–81. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-65-81>

*Submitted 05.09.2019*

*Revised 20.01.2020*

*Published 10.03.2020*

## Введение

Социально значимая проблема современного общества, с точки зрения гастроэнтерологов, — воспалительные заболевания кишечника, такие как гастроэнтерит, язвенная болезнь, синдром раздраженного кишечника, энтероколит и др. [8].

С регулярной частотой данные патологии принимают хроническое течение и поражают любую часть желудочно-кишечного тракта в сопровождении многочисленных нарушений физиологической функции желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [7]. Установлено, что в запущенных случаях воспаление отделов кишечника приводит к тяжелым осложнениям, наблюдается развитие резистентности к традиционной терапии, деструкция интрамурального нервного аппарата кишки, изменения условно-патогенной микрофлоры, нарушения функций иммунной системы кишечника [12].

Данная ситуация усугубляется постоянным ростом заболеваемости среди населения, нередко приводящим к инвалидизации. По прогнозам экспертов Всемирной организации здравоохранения, в середине XXI века болезни органов пищеварения будут занимать одно из ведущих мест.

Весомым фактором развития заболеваний ЖКТ, описанных в общедоступных литературных источниках, является приём нестероидных противовоспалительных средств

(НПВС). Одним из частых осложнений потребления НПВС является энтероколит [10]. Энтероколит — воспалительное или воспалительно-дистрофическое поражение тонкого (энтерит) и толстого (колит) кишечника [2].

В связи с высокой медико-социальной значимостью проблемы патологии ЖКТ и частотой распространения данной проблемы встает вопрос о поиске новых средств профилактики и лечения НПВС-индуцированной патологии ЖКТ. Экспериментальное моделирование заболеваний ЖКТ, максимально приближенных по происхождению и механизму развития соответствующего заболевания у человека, является актуальной проблемой современной медицины [11].

Исходя из вышесказанного **целью** работы являлось получение адекватной биомодели энтероколита на белых лабораторных крысах.

## Материалы и методы

К современным методам моделирования болезней органов пищеварения относят такие способы, как воздействие на геном животных антигеном гемоцианином с целью утраты иммунной толерантности к аутологичной (собственной) кишечной микрофлоре, в результате чего через 7–14 дней развивается энтероколит [1]. Большую актуальность имеет способ химического

индуцирования энтероколита с использованием декстрана сульфата натрия ректально, растворенного в 50% спирта этилового, или введение 1 мл 4% или 10% уксусной кислоты ректально [4–6, 13–15]. Многие авторы предпочитают применять химически индуцированные модели с учетом их низкой стоимости и быстрых результатов в экспериментальном моделировании болезней ЖКТ. Популярны «индометациновая» и «аспириновая» модели. Во всех случаях отмечается потеря веса, кровавая диарея, в морфологии тканей — укорочение ободочной кишки, изъязвление слизистой оболочки, уменьшение числа бокаловидных клеток, крипт и их глубины, инфильтрация лимфоцитами, плазмócитами и гистócитами [14]. Однако при использовании этих моделей отмечается широкий разброс результатов эксперимента и высокая летальность [11].

Исходя из литературных данных о взаимосвязи употребления НПВС и развития энтероколита, нами было предложено использовать ацетилсалициловую кислоту и декскетопрофен. Ацетилсалициловая кислота — представитель анальгетиков-антипиретиков (салицилатов). Из механизмов влияния ацетилсалициловой кислоты на гемостаз основное значение придается ее способности селективно и необратимо модифицировать фермент циклооксигеназу (ЦОГ), катализирующий первый этап биосинтеза простаноидов из арахидоновой кислоты (ацетилирование участка ЦОГ приводит к изменению конформации активной области фермента и потере способности связывать арахидоновую кислоту). Ингибирование синтеза простагландинов в ЦНС обеспечивает быстро наступающий умеренный обезболивающий и жаропонижающий эффект. Декскетопрофен — лекарственное средство, нестероидный противовоспалительный препарат из группы производных пропионовой кислоты, чистый правовращающий стереоизомер кето-

профена. Механизм действия связан с необратительным ингибированием ферментов циклооксигеназы ЦОГ1 и ЦОГ2 и блокированием синтеза простагландинов [2]. Также стоит отметить, что ранее декскетопрофен не использовался в моделировании энтероколита у животных.

Исследования проводили на крысах-самках популяции линий Wistar ( $n=32$  особи) начальной средней массой  $220\pm 3,8$  г. Животные были получены из филиала «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России и отобраны в эксперимент методом рандомизации. Эксперименты на крысах проводили в соответствии с Приказом Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» и требованиями Федерального закона «О защите животных от жестокого обращения» от 01.09.1997 г.

Кормление осуществлялось стандартным полнорационным гранулированным комбикормом для лабораторных животных (экструдированным) ПК-120 ГОСТ Р 51849-2001 Р.5, водопроводная очищенная вода всем животным давалась *ad libitum* в стандартных поилках. В качестве подстилки использовали стерильные древесные опилки. Животные содержались в микроизоляторной системе Rair IsoSystem по 4 особи, в контролируемых условиях окружающей среды (температура воздуха 18–22 °С, относительная влажность 60–70%, освещение в помещениях — естественно-искусственное) и соответствовали категории конвенциональных.

В течение 5-ти дней животным групп 1 и 2 внутрижелудочно, атравматичным зондом вводили ацетилсалициловую кислоту в дозе 100 мг/кг и декскетопрофен в дозе 25 мг/кг. Животным группы 3 в течение 3-х дней внутримышечно (i/m) вводили декскетопрофен в дозе 25 мг/кг. Животным группы 4 в течение 1-го дня внутримышечно вводили декскетопрофен в дозе 50 мг/кг. Схема эксперимента представлена в табл. 1.

Таблица 1. Схема эксперимента

Table 1. Scheme of the experiment

| Период эксперимента (дни) | Ацетилсалициловая кислота <i>per os</i> 100 мг/кг (группа 1) | Декскетопрофен <i>per os</i> 25 мг/кг (группа 2) | Декскетопрофен <i>i/m</i> 25 мг/кг (группа 3) | Декскетопрофен <i>i/m</i> 50 мг/кг (группа 4) |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 1                         | +                                                            | +                                                | +                                             | +                                             |
| 2                         | +                                                            | +                                                | +                                             | * (1)                                         |
| 3                         | +                                                            | +                                                | +/* (1)                                       | Забой 3 особи                                 |
| 4                         | +                                                            | +/* (1)                                          | Забой 3 особи                                 |                                               |
| 5                         | +                                                            | +                                                |                                               | Забой 3 особи/* (1)                           |
| 6                         | Забой 4 особи                                                | Забой 3 особи                                    | * (2)                                         |                                               |
| 7                         |                                                              | * (1)                                            | Забой 2 особи                                 |                                               |
| 10                        | Забой 4 особи                                                | Забой 3 особи                                    |                                               |                                               |

**Примечание:** + — введение препаратов, \* — павшие животные (количество).

**Note:** + — administration of drugs, \* — died animals (number).

В каждой группе брали по 8 животных, на забой — по 4 особи. В соответствии с графиком животные подвергались эвтаназии, после чего проводилось гистологическое исследование отделов ЖКТ (желудок, тонкий и толстый кишечник). Внутренние органы фиксировались в 10% р-ре нейтрального формалина. Затем, после обезвоживания и заливки в парафин, готовились гистологические срезы при помощи микротомы с последующим окрашиванием гематоксилин-эозином. Гистологические исследования проводились с помощью цифровой микроскопии.

## Результаты и их обсуждение

Введение препаратов во всех группах сопровождалось снижением потребления корма, визуальным угнетением животных, уменьшением их двигательной активности. Через 3–5 дней отмечено изменение консистенции и цвета кала.

Далее представлены результаты гистологического исследования.

### Группа 1. Пероральное введение ацетилсалициловой кислоты в дозе 100 мг/кг

#### Забой на 6-е сут

**Желудок:** передняя часть желудка покрыта многослойным плоским ороговевающим эпителием с признаками незначительной митотической активности клеток базального слоя, с незначительной

диффузной воспалительной инфильтрацией в подлежащей строме, отграничена от железистой части хорошо выраженным складчатым краем (*margoplicatus*). Стенка желудка без достоверных гистологических изменений. Желудочные ямки узкие, выражены, трубчатые железы узкие, длинные, с узкими просветами. Мышечная пластинка слизистой оболочки хорошо видна, с диффузно расположенными элементами воспалительного инфильтрата с примесью полиморфноядерных лейкоцитов, подслизистая основа представлена отечной рыхлой соединительной тканью с полнокровными сосудами. Мышечная оболочка представлена тремя слоями гладкомышечных волокон — циркулярного, продольного и косоого. Серозная оболочка выражена, без гистологических особенностей (рис. 1).

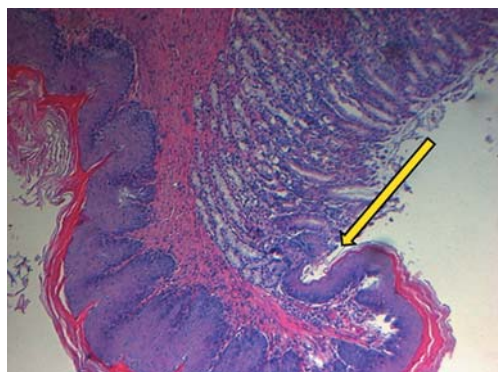
**Тонкая кишка:** часть слизистой оболочки тонкой кишки покрыта слизью, содержит фрагменты десквамированного эпителия поверхностных отделов ворсинок. Ворсинки выражены, покрыты однослойным цилиндрическим каемчатым эпителием, отмечается выраженная воспалительная инфильтрация стромы ворсинок, представленная преимущественно лимфоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками. Крипты выстланы также однорядным цилиндрическим каемчатым эпителием,

как и в ворсинах. Мышечная пластинка и подслизистый слой хорошо различимы. Мышечный слой представлен двумя слоями гладкомышечной ткани, внутренним циркулярным и наружным продольным. Прослеживаются многочисленные интрамуральные нервные ганглии (компоненты межмышечного нервного сплетения). Серозная оболочка представлена одним слоем клеток мезотелия (рис. 2).

**Толстая кишка:** на всем протяжении — незначительная рыхлая круглоклеточная инфильтрация слизистой и подслизистого слоя, единичные круглые клетки в мышечном слое. В одном поле зрения — дефект слизистой оболочки, дном которого является подслизистый слой, плотно инфильтрированный клетками белой крови с преобладанием сегментоядерных лейкоцитов; дефект заполнен плотно лежащими нейтрофилами. Гиперфункция бокаловидных клеток. В просвете кишки фрагменты растительных волокон и мелкие фрагменты некротизированной слизистой оболочки (рис. 3).

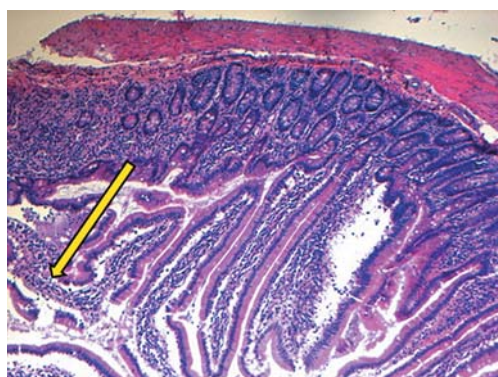
#### **Забой на 10-е сут**

**Желудок:** передняя часть желудка покрыта многослойным плоским ороговевающим эпителием с незначительной диффузной воспалительной инфильтрацией в подлежащей строме, отграничена от железистой части хорошо выраженным складчатым краем (*margoplicatus*). Стенка желудка без достоверных гистологических изменений. Желудочные ямки узкие, выражены, трубчатые железы узкие, длинные, с узкими просветами. Мышечная пластинка слизистой оболочки хорошо видна, с диффузно расположенными элементами воспалительного инфильтрата, с примесью полиморфноядерных лейкоцитов. Подслизистая основа представлена отеочной рыхлой соединительной тканью с полнокровными сосудами. Мышечная оболочка представлена тремя слоями гладкомышечных волокон — циркулярного,



**Рис. 1.** Гистологическое исследование желудка (группа 1, забой на 6-е сут): выраженный складчатый край стенки желудка (*margoplicatus*). Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 1.** Histological examination of the stomach (group 1, slaughter on the 6th day): pronounced folded edge of the wall of the stomach (*margoplicatus*). Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.



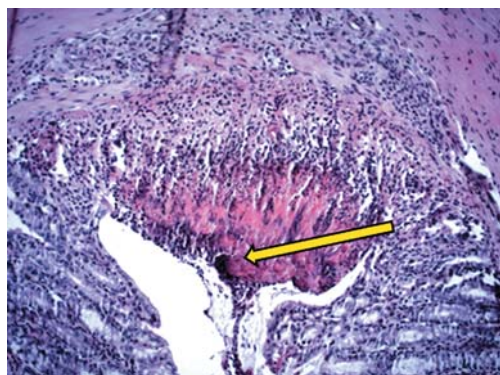
**Рис. 2.** Гистологическое исследование тонкой кишки (группа 1, забой на 6-е сут): десквамация поверхностных отделов эпителия ворсинок, выраженная инфильтрация стромы ворсинок. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 2.** Histological examination of the small intestine (group 1, slaughter on the 6th day): desquamation of the superficial parts of the villus epithelium, severe infiltration of the stroma of the villi. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.

продольного и косоого. Серозная оболочка выражена, без гистологических особенностей (рис. 4).

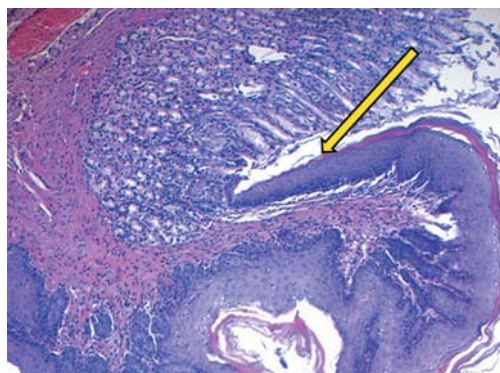
**Тонкая кишка:** часть слизистой оболочки тонкой кишки покрыта слизью, содержащей фрагменты десквамированного





**Рис. 3.** Гистологическое исследование толстой кишки (группа 1, забой на 6-е сут): дефект слизистой оболочки, дном которого является подслизистый слой. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 3.** Histological examination of the large intestine (group 1, slaughter on the 6th day): mucosal defect, the bottom of which is the submucosa. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.



**Рис. 4.** Гистологическое исследование желудка (группа 1, забой на 10-е сут): выраженный складчатый край стенки желудка (margoplicatus). Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 4.** Histological examination of the stomach (group 1, slaughter on the 10th day): pronounced folded edge of the wall of the stomach (margoplicatus). Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.

эпителия поверхностных отделов ворсинок. Ворсинки выражены, покрыты однослойным цилиндрическим каемчатым эпителием, отмечается выраженная воспалительная инфильтрация стромы ворсинок, представленная преимущественно лимфоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками. Крипты выстланы также

однорядным цилиндрическим каемчатым эпителием, как и в ворсинах. Мышечная пластинка и подслизистый слой хорошо различимы. Мышечный слой представлен двумя слоями гладкомышечной ткани, внутренним циркулярным и наружным продольным. Прослеживаются многочисленные мелкие интрамуральные нервные ганглии (компоненты межмышечного нервного сплетения). Серозная оболочка представлена одним слоем клеток мезотелия (рис. 5).

**Толстая кишка:** в просвете толстой кишки — аморфные массы, содержащие растительные волокна. Отмечается десквамация и слущивание клеток поверхностных отделов крипт. Крипты глубокие, выстланы однослойным цилиндрическим каемчатым эпителием с преобладанием бокаловидных клеток. Собственная пластинка слизистой оболочки отечная, с диффузной воспалительной инфильтрацией, мышечная пластинка плохо выражена. Подслизистая основа истончена, с небольшим количеством сосудов. Мышечная оболочка выражена, представлена двумя слоями гладкомышечных клеток — внутренним циркулярным и наружным продольным. Прослеживаются мелкие многочисленные интрамуральные нервные ганглии, расположенные между мышечными волокнами. Серозная оболочка представлена рыхлой волокнистой соединительной тканью, покрытой слоем клеток мезотелия. К стенке кишки прилежит участок жировой ткани с диффузно-очаговой воспалительной инфильтрацией, представленной лимфоцитами с примесью единичных полиморфноядерных лейкоцитов (рис. 6).

### **Группа 2. Пероральное введение**

### **декскетопрофена в дозе 25 мг/кг**

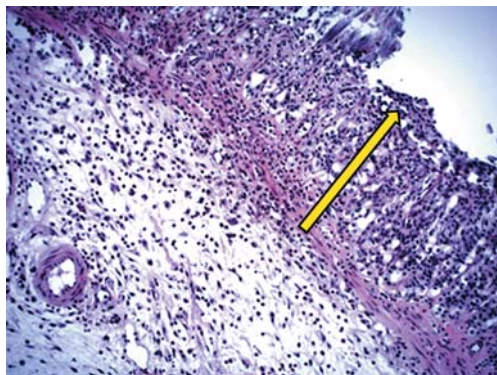
### **Забой на 6-е сут**

**Желудок:** передняя часть желудка покрыта многослойным плоским ороговевающим эпителием с признаками незначительной митотической активности



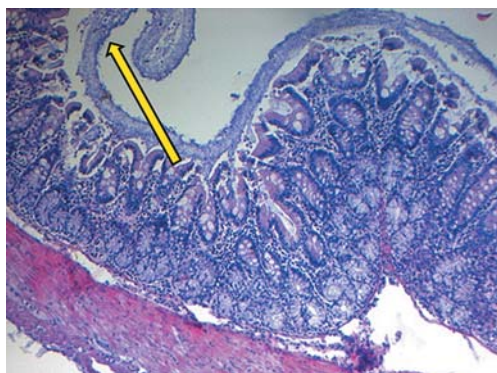
клеток базального слоя, с незначительной диффузной воспалительной инфильтрацией в подлежащей строме, ограничена от железистой части хорошо выраженным складчатым краем (*margoplicatus*). На незначительном расстоянии от складчатого края на всем протяжении желудка прослеживаются линейные, сливающиеся местами участки неглубоких некрозов, инфильтрированных полиморфноядерными лейкоцитами их осколками, — эрозии. Отмечается распространение полиморфноядерных лейкоцитов на подлежащие участки мышечной пластинки слизистой оболочки и подслизистую основу. Стенка желудка в сохранных участках без достоверных гистологических изменений: желудочные ямки узкие, выражены, трубчатые железы узкие, длинные, с узкими просветами. Мышечная пластинка слизистой оболочки хорошо видна, с диффузно расположенными элементами воспалительного инфильтрата с примесью полиморфноядерных лейкоцитов, подслизистая основа представлена отечной рыхлой соединительной тканью с полнокровными сосудами. Мышечная оболочка представлена тремя слоями гладкомышечных волокон — циркулярного, продольного и косого. Серозная оболочка выражена, без гистологических особенностей (рис. 7).

*Тонкая кишка:* с участком неглубокого некроза слизистой оболочки, пронизанным полиморфноядерными лейкоцитами и их осколками, — эрозия, с распространением единичных лейкоцитов на подлежащие участки собственной пластинки слизистой оболочки. В относительно сохранных участках тонкой кишки ворсинки выражены, покрыты однослойным цилиндрическим каёмчатым эпителием, отмечается выраженная воспалительная инфильтрация стромы ворсинок, представленная преимущественно лимфоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками. Крипты выстланы также однорядным цилиндрическим



**Рис. 5.** Гистологическое исследование тонкого кишечника (группа 1, забой на 10-е сут): десквамация поверхностных отделов слизистой оболочки в просвет. Оживление стромы ворсин. Гиперфункция бокаловидных клеток. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

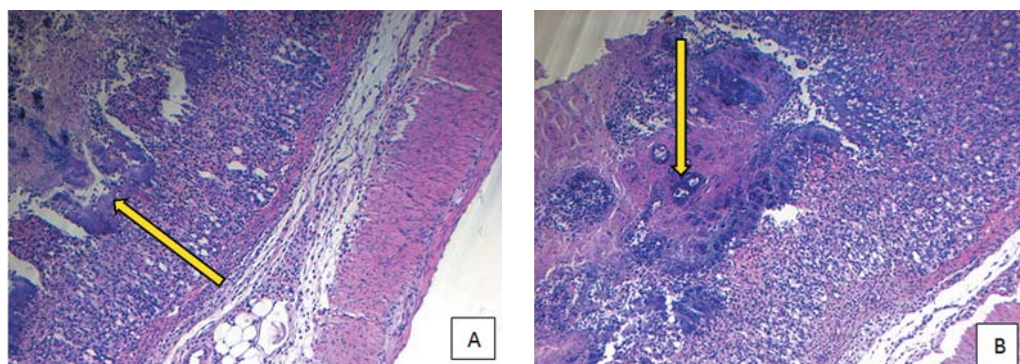
**Fig. 5.** Histological examination of the small intestine (group 1, slaughter on the 10th day): desquamation of the superficial parts of the mucous membrane into the lumen. Revitalization of the stroma of the villi. Goblet cell hyperfunction. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.



**Рис. 6.** Гистологическое исследование толстой кишки (группа 1, забой на 10-е сут): с участком десквамации эпителия поверхностных отделов слизистой оболочки. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 6.** Histological examination of the large intestine (group 1, slaughter on the 10th day): with a desquamation site of the epithelium of the superficial parts of the mucous membrane. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.

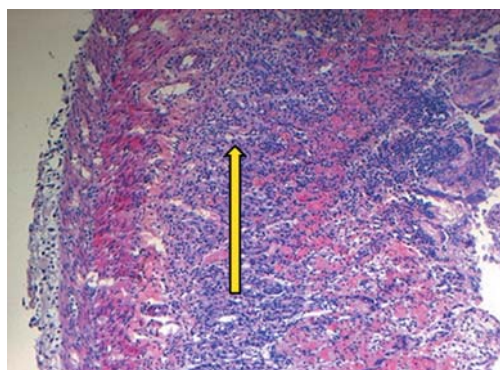
каёмчатым эпителием, как и в ворсинах. Мышечная пластинка и подслизистый слой хорошо различимы. Мышечный слой представлен двумя слоями гладкомышечной



**Рис. 7.** Гистологическое исследование желудка (группа 2, забой на 6-е сут): эрозии слизистой оболочки желудка, пронизанные полиморфноядерными лейкоцитами. Ув.  $\times 100$  (A), ув.  $\times 200$  (B). Окраска гематоксилином-эозином.  
**Fig. 7.** Histological examination of the stomach (group 2, slaughter on the 6th day): erosion of the gastric mucosa penetrated by polymorphonuclear leukocytes. Magn.  $\times 100$  (A),  $\times 200$  (B). Hematoxylin and eosin staining.

ткани, внутренним циркулярным и наружным продольным. Серозная оболочка представлена одним слоем клеток мезотелия (рис. 8).

**Толстая кишка:** в просвете толстой кишки — аморфные бесструктурные массы с элементами гемолизированных эритроцитов и незначительной лейкоцитарной инфильтрацией. Стенка толстой кишки с тотальным некрозом всех



**Рис. 8.** Гистологическое исследование тонкой кишки (группа 2, забой на 6-е сут): эрозия слизистой оболочки, инфильтрированная полиморфноядерными лейкоцитами. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 8.** Histological examination of the small intestine (group 2, slaughter on the 6th day): erosion of the mucous membrane infiltrated by polymorphonuclear leukocytes. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.

слоев, пронизана полиморфноядерными лейкоцитами, распространяющимися на прилежащие участки жировой ткани (перитонит). Среди некротических масс определяются полнокровные сосуды, тени сосудов (рис. 9).

#### **Забой на 10-е сут**

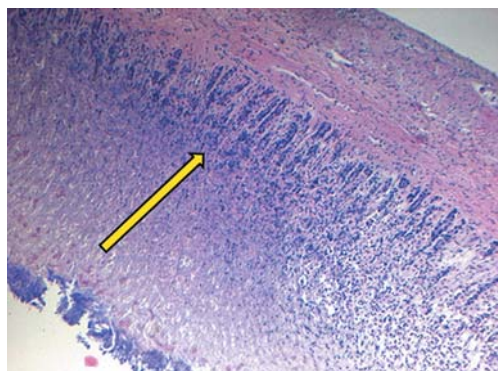
**Желудок:** передняя часть желудка покрыта многослойным плоским ороговевающим эпителием с незначительной диффузной воспалительной инфильтрацией в подлежащей строме, отграничена от железистой части хорошо выраженным складчатым краем (*margoplicatus*). В слизистой части желудка отмечается поверхностный участок асептического некроза, в дне которого прослеживаются элементы слизистых желез. Стенка желудка на остальном протяжении без достоверных гистологических изменений. Желудочные ямки узкие, выражены, трубчатые железы узкие, длинные, с узкими просветами. Мышечная пластинка слизистой оболочки хорошо видна, с диффузно расположенными элементами воспалительного инфильтрата с примесью полиморфноядерных лейкоцитов, подслизистая основа представлена отечной рыхлой соединительной тканью с полнокровными сосудами. Мышечная оболочка представлена тремя слоями глад-





**Рис. 9.** Гистологическое исследование толстой кишки (группа 2, забой на 6-е сут): тотальный некроз стенки кишки, распространяющийся на прилежащие участки жировой ткани, с выраженной диффузной инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 9.** Histological examination of the large intestine (group 2, slaughter on the 6th day): total necrosis of the intestinal wall, spreading to adjacent areas of adipose tissue, with marked diffuse infiltration of polymorphonuclear leukocytes. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.



**Рис. 10.** Гистологическое исследование желудка (группа 2, забой на 10-е сут): с участком асептического некроза в области слизистой оболочки, в дне которого прослеживаются элементы слизистых желез. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 10.** Histological examination of the stomach (group 2, slaughter on the 10th day): with a site of aseptic necrosis in the mucous membrane, at the bottom of which elements of the mucous glands are observed. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.

комышечных волокон — циркулярного, продольного и косого. Серозная оболочка выражена, без гистологических особенностей (рис. 10).

**Тонкая кишка:** стенка тонкой кишки (рис. 11) с тотальным некрозом всех слоев и прилежащих участков жировой ткани, пронизана полиморфноядерными лейкоцитами и их осколками, распространяющимися на прилежащую жировую ткань брыжейки (перитонит).

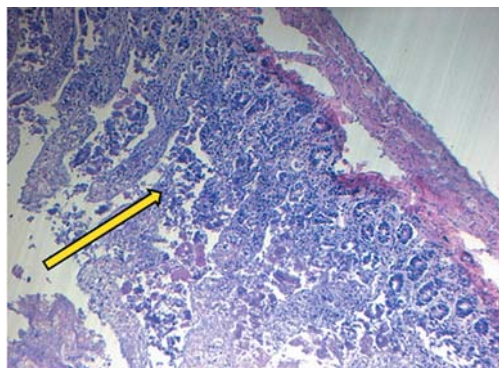
**Толстая кишка:** в просвете толстой кишки — аморфные бесструктурные массы с элементами гемолизированных эритроцитов и незначительной лейкоцитарной инфильтрацией. Стенка толстой кишки с тотальным некрозом всех слоев, с незначительной инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами, распространяющимися на прилежащие участки жировой ткани (перитонит). Среди масс некроза прослеживаются тени паретически расширенных сосудов, выраженная лейкоцитарная инфильтрация (рис. 12).

### **Группа 3. Внутримышечное введение декскетопрофена в дозе 25 мг/кг**

#### **Забой на 4-е сут**

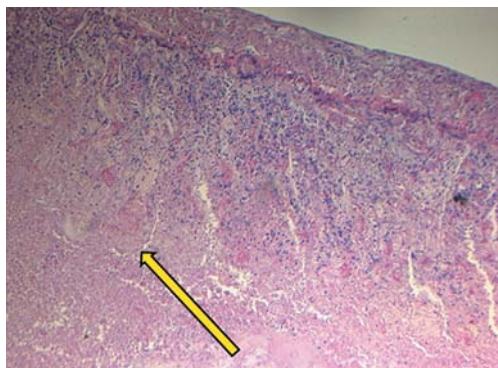
**Желудок:** частично покрыт многослойным плоским ороговевающим эпителием. Прослеживаются участки десквамации эпителия поверхностных отделов, прикрытых слизью, содержащей слущенные клетки эпителия. В сохранных участках желудочные ямки узкие, местами сглажены, трубчатые железы узкие, длинные, с узкими просветами. Мышечная пластинка слизистой оболочки местами плохо видна, подслизистая основа представлена отечной рыхлой соединительной тканью. Мышечная оболочка представлена тремя слоями гладкомышечных волокон — циркулярного, продольного и косого. Серозная оболочка выражена, без гистологических особенностей (рис. 13).

**Тонкая кишка:** часть слизистой оболочки тонкой кишки покрыта слизью, содержащей фрагменты десквамированного эпителия поверхностных отделов ворсинок.



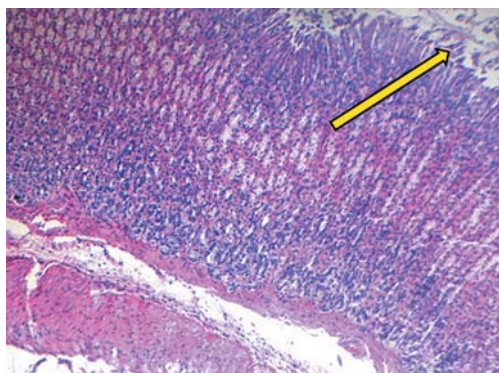
**Рис. 11.** Гистологическое исследование тонкой кишки (группа 2, забой на 10-е сут): с тотальным некрозом всех слоев и прилежащих участков жировой ткани, инфильтрированных полиморфноядерными лейкоцитами. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 11.** Histological examination of the small intestine (group 2, slaughter on the 10th day): with the total necrosis of all layers and adjacent areas of adipose tissue, infiltrated by polymorphonuclear leukocytes. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.



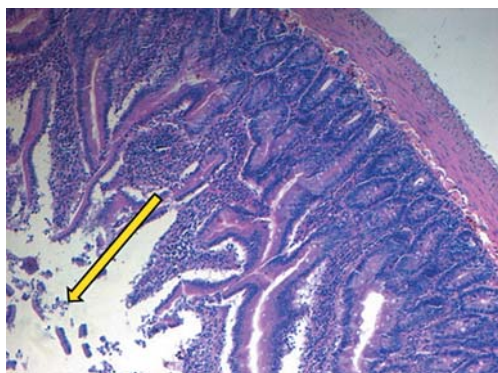
**Рис. 12.** Гистологическое исследование толстой кишки (группа 2, забой на 10-е сут): с тотальным некрозом всех слоев и прилежащих участков жировой ткани, с незначительной инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 12.** Histological examination of the large intestine (group 2, slaughter on the 10th day): with the total necrosis of all layers and adjacent areas of adipose tissue, with slight infiltration by polymorphonuclear leukocytes. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.



**Рис. 13.** Гистологическое исследование желудка (группа 3, забой на 4-е сут): стенка желудка с участком десквамации слизистой оболочки в поверхностных отделах. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

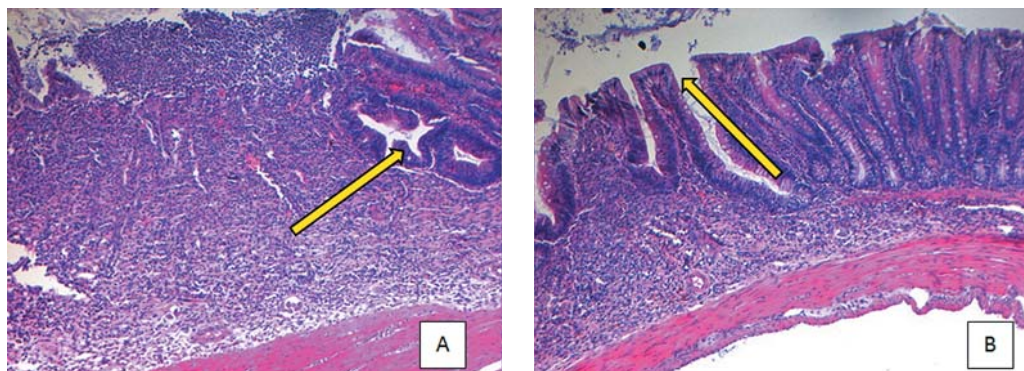
**Fig. 13.** Histological examination of the stomach (group 3, slaughter on the 4th day): the wall of the stomach with a site of desquamation of the mucous membrane in the superficial parts. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.



**Рис. 14.** Гистологическое исследование тонкой кишки (группа 3, забой на 4-е сут): стенка тонкой кишки с участком десквамации слизистой оболочки в поверхностных отделах, с выраженной воспалительной инфильтрацией в строме ворсинок. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 14.** Histological examination of the small intestine (group 3, slaughter on the 4th day): the wall of the small intestine with a desquamation site of the mucous membrane in the superficial parts, with severe inflammatory infiltration in the stroma of the villi. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.





**Рис. 15.** Гистологическое исследование толстой кишки (группа 3, забой на 4-е сут): стенка толстой кишки с поверхностной эрозией, густо инфильтрированной полиморфноядерными лейкоцитами, подлежащим участком полнокровных сосудов (А). Тубулярно-ворсинчатая аденома толстой кишки в крае эрозии (В). Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 15.** Histological examination of the large intestine (group 3, slaughter on the 4th day): the wall of the colon with superficial erosion, densely infiltrated by polymorphonuclear leukocytes, the site of the full-blood vessels (A). Tubular-perineal colon adenoma at the edge of erosion (B). Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.

Ворсинки выражены, покрыты однослойным цилиндрическим каёмчатым эпителием, отмечается выраженная воспалительная инфильтрация стромы ворсинок, представленная преимущественно лимфоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками. Крипты выстланы также однорядным цилиндрическим каёмчатым эпителием, как и в ворсинах. Мышечная пластинка и подслизистый слой хорошо различимы. Мышечный слой представлен двумя слоями гладкомышечной ткани, внутренним циркулярным и наружным продольным. Прослеживаются многочисленные мелкие интрамуральные нервные ганглии (компоненты межмышечного нервного сплетения). Серозная оболочка представлена одним слоем клеток мезотелия (рис. 14).

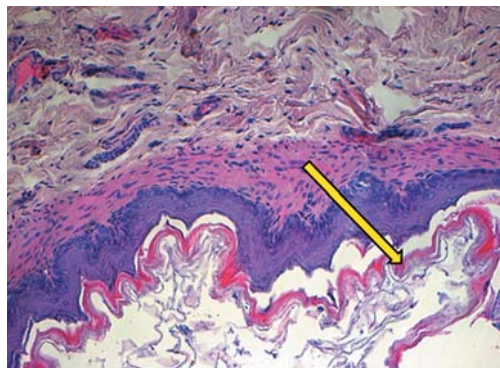
**Толстая кишка:** стенка толстой кишки с поверхностным эрозированием, представленным участком некроза, распространяющимся на собственную пластинку слизистой оболочки и подслизистую основу, до мышечной оболочки, пронизанной полиморфноядерными лейкоцитами. В крае эрозии отмечается рост тубу-

лярно-ворсинчатой аденомы с Low-grade дисплазией эпителия желез. В сохранных участках крипты глубокие, выстланы однослойным цилиндрическим каёмчатым эпителием с преобладанием бокаловидных клеток. Собственная пластинка слизистой оболочки отчетная, с диффузной воспалительной инфильтрацией, мышечная пластинка плохо выражена. Подслизистая основа представлена гиперваскуляризированной рыхлой соединительной тканью. Мышечная оболочка выражена, представлена двумя слоями гладкомышечных клеток — внутренним циркулярным и наружным продольным. Прослеживаются мелкие многочисленные интрамуральные нервные ганглии, расположенные между мышечными волокнами. Серозная оболочка представлена рыхлой волокнистой соединительной тканью, покрытой слоем клеток мезотелия (рис. 15).

#### **Забой на 7-е сут**

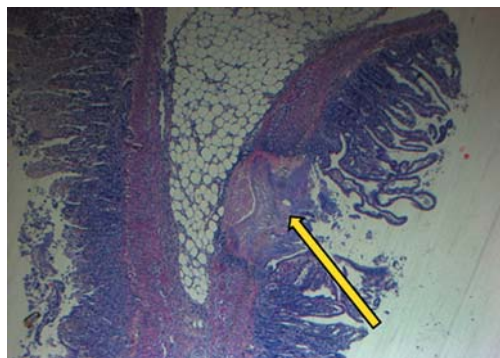
**Желудок:** передняя часть желудка покрыта многослойным плоским ороговевающим эпителием, отграничена от железистой части хорошо выраженным складчатым краем (*margoplicatus*). Стенка





**Рис. 16.** Гистологическое исследование желудка (группа 3, забой на 7-е сут): передняя часть желудка, покрытая многослойным плоским ороговевающим эпителием. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 16.** Histological examination of the stomach (group 3, slaughter on the 7th day): the front of the stomach covered with stratified squamous epithelium. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.



**Рис. 17.** Гистологическое исследование тонкой кишки (группа 3, забой на 7-е сут): язва стенки тонкой кишки, с распространением некроза на прилежащие участки жировой ткани брыжейки, с выраженной воспалительной инфильтрацией в краях язвы. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 17.** Histological examination of the small intestine (group 3, slaughter on the 7th day): an ulcer of the wall of the small intestine, with the spread of necrosis to adjacent areas of the adipose tissue of the mesentery, with severe inflammatory infiltration at the edges of the ulcer. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.

желудка без достоверных гистологических изменений. Желудочные ямки узкие, выражены, трубчатые железы узкие, длинные, с узкими просветами. Мышечная пластинка слизистой оболочки хорошо

видна, с диффузно расположенными элементами воспалительного инфильтрата с примесью полиморфноядерных лейкоцитов, подслизистая основа представлена отечной рыхлой соединительной тканью с полнокровными сосудами. Мышечная оболочка представлена тремя слоями гладкомышечных волокон — циркулярного, продольного и косоуго. Серозная оболочка выражена, без гистологических особенностей (рис. 16).

**Тонкая кишка:** с обширными участками десквамации и слущивания эпителия поверхностных отделов в просвет кишки. Прослеживаются участки поверхностного эрозирования, представленные участками некроза, затрагивающего слизистую оболочку, подслизистую основу (до мышечного слоя) и единичными, более глубокими некротическими дефектами, с выраженной воспалительной инфильтрацией, распространяющейся на всю стенку кишки и прилежащие участки жировой ткани брыжейки (язва). Сохранные участки тонкой кишки обычного гистологического строения: ворсинки выражены, покрыты однослойным цилиндрическим каемчатым эпителием, отмечается выраженная воспалительная инфильтрация стромы ворсинок очагово-диффузного характера, представленная преимущественно лимфоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками. Крипты выстланы также однорядным цилиндрическим каемчатым эпителием, как и в ворсинах. Мышечная пластинка и подслизистый слой хорошо различимы. Подслизистый слой отечный, разрыхлен, с полнокровными сосудами. Мышечный слой представлен двумя слоями гладкомышечной ткани — внутренним циркулярным и наружным продольным. Серозная оболочка представлена одним слоем клеток мезотелия (рис. 17).

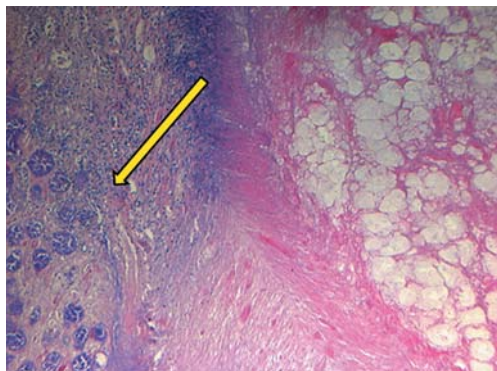
**Толстая кишка:** в просвете толстой кишки (рис. 18) — аморфные бесструктурные массы, без воспалительной инфильтрации.

Стенка толстой кишки с тотальным, умеренно выраженной воспалительной инфильтрацией, некрозом всех слоёв, распространяющимся на жировую ткань брыжейки с формированием асептических жировых некрозов (перитонит).

#### **Группа 4. Внутримышечное введение декскетопрофена в дозе 50 мг/кг**

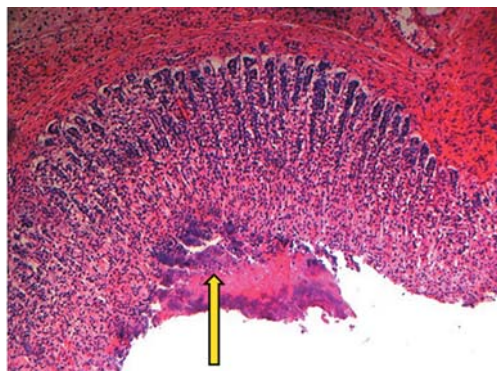
##### **Забой на 3-и сут**

**Желудок:** передняя часть желудка покрыта многослойным плоским ороговевающим эпителием с признаками незначительной митотической активности клеток базального слоя, с незначительной диффузной воспалительной инфильтрацией в подлежащей строме, отграничена от железистой части хорошо выраженным складчатым краем (*margoplicatus*). На незначительном расстоянии от складчатого края прослеживаются многочисленные участки некроза стенки, затрагивающие слизистую оболочку, собственную пластинку слизистой оболочки и подслизистый слой (до мышечной оболочки), по типу поверхностного эрозирования, представленные аморфными массами некроза, инфильтрированного полиморфноядерными лейкоцитами и их осколками. Отмечается распространение полиморфноядерных лейкоцитов на подлежащие участки мышечной оболочки. Стенка желудка в сохранных участках без достоверных гистологических изменений: желудочные ямки узкие, выражены, трубчатые железы узкие, длинные, с узкими просветами. Мышечная пластинка слизистой оболочки хорошо видна, с диффузно расположенными элементами воспалительного инфильтрата с примесью полиморфноядерных лейкоцитов, подслизистая основа представлена отечной рыхлой соединительной тканью с полнокровными сосудами. Мышечная оболочка представлена тремя слоями гладкомышечных волокон — циркулярного, продольного и косого. Серозная оболочка выражена, без гистологических особенностей (рис. 19).



**Рис. 18.** Гистологическое исследование толстой кишки (группа 3, забой на 7-е сут): стенка толстой кишки с тотальным некрозом всех слоев стенки, распространяющимся на прилежащие участки жировой ткани брыжейки, с умеренно выраженной воспалительной инфильтрацией. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 18.** Histological examination of the large intestine (group 3, slaughter on the 7th day): the wall of the large intestine with total necrosis of all layers of the wall extending to the adjacent areas of the mesenteric adipose tissue, with moderate inflammatory infiltration. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.

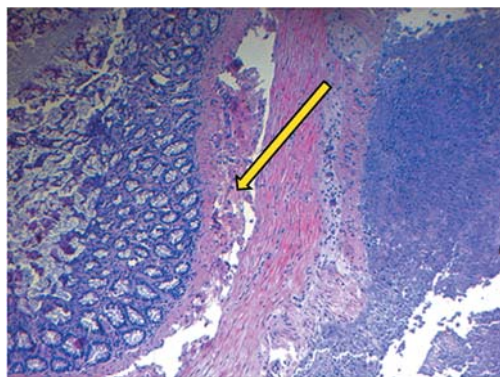


**Рис. 19.** Гистологическое исследование желудка (группа 4, забой на 3-и сут): участки поверхностного эрозирования слизистой оболочки желудка, пронизанные полиморфноядерными лейкоцитами. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 19.** Histological examination of the stomach (group 4, slaughter on the 3th day): areas of superficial erosion of the gastric mucosa penetrated by polymorphonuclear leukocytes. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.

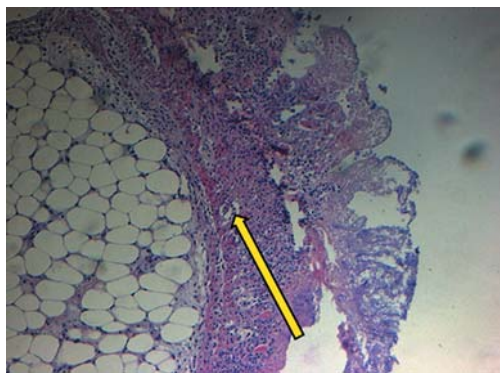
**Тонкая кишка:** просвет тонкой кишки (рис. 20) заполнен аморфными бесструктурными массами некротического детрита.





**Рис. 20.** Гистологическое исследование тонкой кишки (группа 4, забой на 3-и сут): тотальный некроз всех слоев стенки с незначительной воспалительной инфильтрацией, распространением клеток воспалительного инфильтрата на прилежащие участки жировой ткани брыжейки. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 20.** Histological examination of the small intestine (group 4, slaughter on the 3th day): the total necrosis of all layers of the wall with slight inflammatory infiltration, the spread of inflammatory infiltrate cells to adjacent areas of the mesenteric adipose tissue. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.



**Рис. 21.** Гистологическое исследование толстой кишки (группа 4, забой на 3-и сут): стенка толстой кишки с тотальным некрозом всех слоев стенки и прилежащих участков жировой ткани, с выраженной инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 21.** Histological examination of the large intestine (group 4, slaughter on the 3th day): the wall of the colon with the total necrosis of all layers of the wall and adjacent areas of adipose tissue, with severe infiltration of polymorphonuclear leukocytes. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.

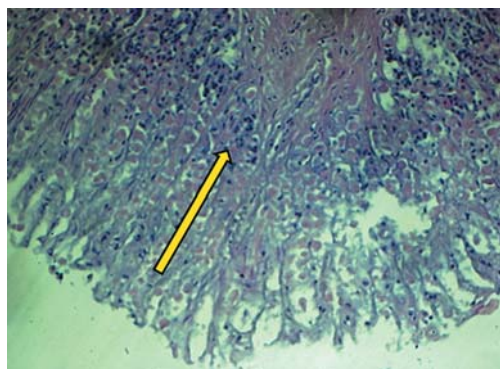
Стенка кишки с тотальным некрозом всех слоев, с минимально выраженной инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами и их осколками, распространяющимися на прилежащие участки жировой ткани (перитонит).

**Толстая кишка:** в просвете толстой кишки (рис. 21) — аморфные бесструктурные массы, пронизанные незначительным количеством полиморфноядерных лейкоцитов. Стенка толстой кишки с тотальным некрозом всех слоев, с выраженной инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами и их осколками, распространяющимися на прилежащие участки жировой ткани брыжейки (перитонит).

#### **Забой на 5-е сут**

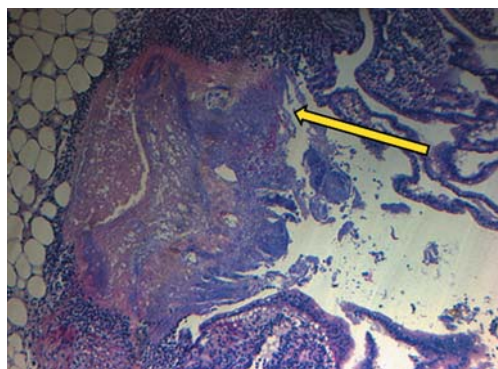
**Желудок:** передняя часть желудка покрыта многослойным плоским ороговевающим эпителием, отграничена от железистой части хорошо выраженным краем (*margoplicatus*). Прослеживается участок некроза слизистой оболочки с незначительной инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами, — эрозия. В сохранных участках желудочные ямки узкие, местами сглажены, трубчатые железы узкие, длинные, с узкими просветами. Мышечная пластинка слизистой оболочки местами плохо видна, подслизистая основа представлена отеком рыхлой соединительной тканью. Мышечная оболочка представлена тремя слоями гладкомышечных волокон — циркулярного, продольного и косоугольного. Серозная оболочка выражена, без гистологических особенностей (рис. 22).

**Тонкая кишка:** с обширными участками десквамации и слущивания эпителия поверхностных отделов в просвет кишки. Прослеживаются участки поверхностного эрозирования, представленные некрозом, затрагивающим слизистую оболочку, подслизистую основу (до мышечного слоя), и единичными, более глубокими некротическими дефектами, с выраженной воспалительной инфильтрацией, распространяющейся на всю стенку кишки и прилежащие



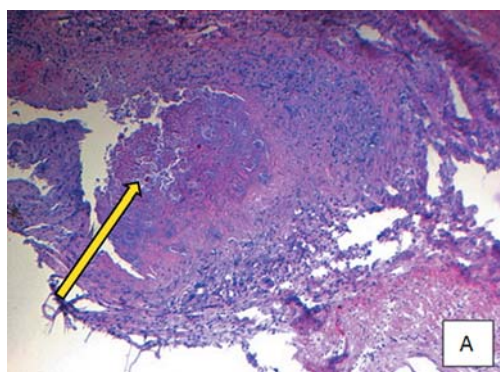
**Рис. 22.** Гистологическое исследование желудка (группа 4, забой на 5-е сут): участок стенки желудка с некрозом слизистой оболочки с незначительной инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами, — эрозия. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 22.** Histological examination of the stomach (group 4, slaughter on the 5th day): a section of the wall of the stomach with necrosis of the mucous membrane with slight infiltration by polymorphonuclear leukocytes, — erosion. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.



**Рис. 23.** Гистологическое исследование тонкой кишки (группа 4, забой на 5-е сут): язва стенки тонкой кишки, с распространением некроза на прилежащие участки жировой ткани брыжейки, с выраженной воспалительной инфильтрацией в краях язвы. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 23.** Histological examination of the small intestine (group 4, slaughter on the 5th day): an ulcer of the wall of the small intestine, with the spread of necrosis to adjacent areas of the adipose tissue of the mesentery, with severe inflammatory infiltration at the edges of the ulcer. Magn.  $\times 100$ . Hematoxylin and eosin staining.



**Рис. 24.** Гистологическое исследование толстой кишки (группа 4, забой на 5-е сут): участки тотального некроза всех слоев стенки кишки с диффузной незначительной воспалительной инфильтрацией, фибринозно-гнойными наложениями на серозной оболочке и прилежащих участках жировой ткани брыжейки. Ув.  $\times 100$  (А),  $\times 200$  (В). Окраска гематоксилином-эозином.

**Fig. 24.** Histological examination of the large intestine (group 4, slaughter on the 5th day): areas of total necrosis of all layers of the intestinal wall with diffuse minor inflammatory infiltration, purulent fibrinous deposits on the serous membrane and adjacent areas of the mesenteric adipose tissue. Magn.  $\times 100$  (A),  $\times 200$  (B). Hematoxylin and eosin staining.

участки жировой ткани брыжейки (язва). Сохранные участки тонкой кишки обычного гистологического строения: ворсинки выражены, покрыты однослойным цилиндрическим каемчатым эпителием, отмечается

выраженная воспалительная инфильтрация стромы ворсинок очагово-диффузного характера, представленная преимущественно лимфоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками. Крипты выстланы также

однорядным цилиндрическим каёмчатым эпителием, как и в ворсинах. Мышечная пластинка и подслизистый слой хорошо различимы. Подслизистый слой отёчный, разрыхлён, с полнокровными сосудами. Мышечный слой представлен двумя слоями гладкомышечной ткани — внутренним циркулярным и наружным продольным. Серозная оболочка представлена одним слоем клеток мезотелия (рис. 23).

*Толстая кишка:* стенка толстой кишки (рис. 24) с участками тотального некроза всех слоев, представленными аморфными бесструктурными массами, с разрозненными элементами воспалительного инфильтрата (лейкоциты). Отмечены обширные наложения некротических масс, содержащих нити фибрина и полиморфноядерные лейкоциты на серозной оболочке и в прилежащих отделах жировой ткани брыжейки (перитонит).

## Резюме

Декскететпрофен во всех изучаемых дозах и при всех способах введения вызывал язвенный энтероколит. Модель, созданная с использованием декскететпрофена, отличается как повреждениями желудка, так и эрозивно-язвенным поражением кишечника, в отличие от «ацетилсалициловой» модели. Ранее, исходя из общедоступных литературных источников, декскететпрофен не использовался с целью моделирования патологий ЖКТ. Скорость формирования язвенного энтероколита, ее выраженность и возникновение осложнений находились в прямо пропорциональной зависимости от дозы декскететпрофена. Стоит отметить, что повреждения чаще развивались при пероральном способе введения препарата, наиболее приближенном к медицинскому применению у человека.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Григорьева Г.А., Мешалкина Н.Ю. *Болезнь Крона*. М.: Медицина, 2007. 184 с. [Grigor'eva G.A., Meshalkina N.Yu. *Bolezn' Krona [Crohn's disease]*. Moscow: Meditsina Publ., 2007. 184 p. (In Russian)].
2. Каркищенко В.Н., Каркищенко Н.Н., Шустов Е.Б. *Фармакологические основы терапии. Тезаурус: Рук-во для врачей и студентов*. 3-е изд. — новая ред. М., СПб.: Айсинг, 2018. 288 с. [Karkischenko V.N., Karkischenko N.N., Shustov E.B. *Farmakologicheskie osnovy terapii. Tezaurus: Ruk-vo dlya vrachej i studentov [Pharmacological basis of therapy. Thesaurus: Manual for doctors and students]*. 3rd ed. — new ed. Moscow, Saint Petersburg: Ajsing Publ., 2018. 288 p. (In Russian)].
3. Кнышова В.В., Иванов Е.М. *Способ моделирования гастроудоденита, ассоциированного с гиперлипидемией*. Патент РФ № 99108752/14. 2002. [Knyshova V.V., Ivanov E.M. *Sposob modelirovaniya gastroduodenita, associirovannogo s giperlipidemiej [A method for modeling gastroduodenitis associated with hyperlipidemia]*. Patent of RF No. 99108752/14. 2002. (In Russian)].
4. Макаренко Т.Н., Дудченко А.М., Лукьянова Л.Д. Разработка модели острого тетрациклинового гепатоза у крыс и получение его динамических предикторов. *Бюлл. экп. биол. и мед.* 1994;12:603–606. [Makarenko T.N., Dudchenko A.M., Luk'yanova L.D. *Razrabotka modeli ostrogo tetraciklinovogo gepatoza u krys i poluchenie ego dinamicheskikh prediktorov* [Development of a model of acute tetracycline hepatitis in rats and obtaining its dynamic predictors]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1994;12:603–606. (In Russian)].
5. Осиков М.В., Симонян Е.В., Бакеева А.Е., Костина А.А. Экспериментальное моделирование болезни Крона и язвенного колита. *Современные проблемы науки и образования*. 2016;4. [Osikov M.V., Simonyan E.V., Bakeeva A.E., Kostina A.A. *Ekspperimental'noe modelirovanie bolezni Krona i yazvennogo kolita [Experimental modeling of Crohn's disease and ulcerative colitis]*. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya [Modern problems of science and education]*. 2016;4. (In Russian)].
6. Пикенин А.М., Пархоменко Л.К., Панков Е.Я. *Способ моделирования язвенной болезни пищеварительной системы*. Патент № 174967А, Бюллетень № 31 (72). Харьков, 1985. [Pikinin A.M., Parhomenko L.K., Pankov E.Ya. *Sposob modelirovaniya yavvennoj bolezni pishchevaritel'noj sistemy [A method for modeling a peptic ulcer of the digestive system]*. Patent No. 174967A, Bulletin No. 31 (72). Kharkov, 1985. (In Russian)].
7. Рахимова О.Ю., Юрков М.Ю., Митрофанова И.П., Пайзуллаева З.К. *Воспалительные заболевания кишечника. Рук-во по гастроэнтерологии*. М., 2010. С. 379–408. [Rahimova O.Yu., Yurkov M. Yu., Mitrofanova I.P., Pajzullaeva Z.K. *Vospalitel'nye*



- zabolevaniya kishechnika [Inflammatory bowel disease]. Guide to gastroenterology. Moscow, 2010. P. 379–408. (In Russian)].
8. Совалкин В.И., Бикбавова Г.Р., Третьякова Т.В., Полторака С.В., Сушкова Е.В., Власенко А.А. Биологическая терапия воспалительных заболеваний кишечника. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2010;3:83–87. [Sovalkin V.I., Bikkavova G.R., Tretyakova T.V., Poltoraka S.V., Sushkova E.V., Vlasenko A.A. Biologicheskaya terapiya vospalitel'nykh zabolevanij kishechnika [Biological therapy of inflammatory bowel diseases]. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2010;3:83–87. (In Russian)].
9. Суслина З.А., Прохоров Д.И., Шилова А.Г. и др. Влияние ацетилсалициловой кислоты в комплексе с липидными наноструктурами различного состава на агрегацию тромбоцитов человека. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2011;74(5):31–34. [Suslina Z.A., Prohorov D.I., Shilova A.G., et al. Vliyanie acetylsalicylovoj kisloty v komplekse s lipidnymi nanostrukturami razlichnogo sostava na agregaciyu trombocitov cheloveka [The effect of acetylsalicylic acid in combination with lipid nanostructures of various compositions on the aggregation of human platelets]. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2011;74(5):31–34. (In Russian)].
10. Тюренков И.Н. Лекарственные поражения кишечника. *Лекарственный вестник*. 2002;2(1):21–26. [Tyurenkov I.N. Lekarstvennye porazheniya kishechnika [Medicinal lesions of the intestine]. *Lekarstvennyy vestnik [Medicinal Bulletin]*. 2002;2(1):21–26. (In Russian)].
11. Федуллова Э.Н. Язвенный колит и болезнь Крона у детей: новые подходы к лечению. *Медицинский альманах*. 2008;5:160–169. [Fedulova E.N. Yazvennyy kolit i bolezнь Krona u detej: novye podhody k lecheniyu [Ulcerative colitis and Crohn's disease in children: new approaches to treatment]. *Medicinskij al'manah [Medical almanac]*. 2008;5:160–169. (In Russian)].
12. Циммерман Я.С. *Классификация основных гастроэнтерологических заболеваний и синдромов*. 3-е изд. Пермь: ПГМА, 2012. 57 с. [Tsimmerman Ya.S. *Klassifikaciya osnovnykh gastroenterologicheskikh zabolevanij i sindromov [Classification of major gastroenterological diseases and syndromes]*. 3rd ed. Perm: PGMA Publ., 2012. 57 p. (In Russian)].
13. Marinov V., et al. Investigation of two models of trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis in rats. *Trakia J. of Sciences*. 2015;13(2):49–54.
14. Morampudi V. DNBS/TNBS Colitis Models: Providing Insights into Inflammatory Bowel Disease and Effects of Dietary Fat. *J. Vis. Exp.* 2014;84.
15. Szalai Z. Novel features of the rat model of inflammatory bowel disease based on 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid-induced acute colitis. *Acta Biologica Szegediensis*. 2014;58(2):127–132.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Клёсов Роман Алексеевич\***, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;  
e-mail: [klesrom@mail.ru](mailto:klesrom@mail.ru)

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

**Степанова Ольга Ивановна**, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;  
e-mail: [olgsima50@mail.ru](mailto:olgsima50@mail.ru)

**Баранова Оксана Владимировна**, к.м.н., ФГАУ «Лечебно-реабилитационный центр» Минздрава России;  
e-mail: [oksanagosha@mail.ru](mailto:oksanagosha@mail.ru)

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

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

**Olga I. Stepanova**, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
e-mail: [olgsima50@mail.ru](mailto:olgsima50@mail.ru)

**Oxana V. Baranova**, Cand. Sci. (Med.), Treatment and Rehabilitation Center of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation;  
e-mail: [oksanagosha@mail.ru](mailto:oksanagosha@mail.ru)

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У КРЫС-ГЕТЕРОЗИГОТ ПО НОКАУТУ ГЕНА ДОФАМИНОВОГО ТРАНСПОРТЁРА DAT

А.Р. Гайнетдинов<sup>1,\*</sup>, З.С. Фесенко<sup>2</sup>, З.Р. Хисматуллина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»  
450076, Российская Федерация, Республика Башкортостан, Уфа, ул. Заки Валиди, д. 32

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»  
199034, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9

В настоящей работе приведены результаты сравнительного анализа поведенческих показателей крыс модели генетического дефицита транспортера дофамина (dopamine transporter, DAT) — гетерозиготных DAT нокаутных крыс (DAT-HET) — и крыс популяции линий Wistar в тестовых установках «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Экстраполяционное избавление». Установлено, что крысы DAT-HET характеризуются повышенной двигательной и исследовательской активностью наряду с пониженной тревожностью, а также нарушением когнитивных функций по сравнению с крысами Wistar, использованными в качестве контроля.

**Ключевые слова:** крысы линии DAT-HET, тестирование поведения, дофаминергическая система

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

**Для цитирования:** Гайнетдинов А.Р., Фесенко З.С., Хисматуллина З.Р. Поведенческие изменения у крыс-гетерозигот по нокауту гена дофаминавого транспортера DAT. *Биомедицина*. 2020;16(1):82–88. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-82-88>

Поступила 22.06.2019

Принята после доработки 16.10.2019

Опубликована 10.03.2020

## BEHAVIOURAL CHANGES IN HETEROZYGOUS RATS BY GENE KNOCKOUT OF THE DOPAMINE TRANSPORTER (DAT)

Albert R. Gainetdinov<sup>1,\*</sup>, Zoya S. Fesenko<sup>2</sup>, Zuhra R. Khismatullina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Bashkir State University  
450076, Russian Federation, Republic of Bashkortostan, Ufa, Zaki Validi str., 32

<sup>2</sup> Saint Petersburg State University  
199034, Russian Federation, Saint Petersburg, Universitetskaya embankment, 7/9

This paper presents the results of a comparative analysis of behavioural indicators in rats with modelled genetic dopamine transporter (DAT) deficiency. Two groups of laboratory animals — heterozygous DAT knockout rats (DAT-HET) and Wistar rats — underwent the “Open field”, “Elevated plus maze” and “Extrapolation deliverance” tests. It is established that DAT-HET rats are characterized by an increased locomotor and research activity along with reduced anxiety and cognitive impairment compared to Wistar rats used as control.

**Keywords:** DAT-HET rats, behavioural testing, dopaminergic system

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

**For citation:** Gainetdinov A.R., Fesenko Z.S., Khismatullina Z.R. Behavioural Changes in Heterozygous Rats by Gene Knockout of the Dopamine Transporter (DAT). *Journal Biomed.* 2020;16(1):82–88. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-82-88>

Submitted 22.06.2019

Revised 16.10.2019

Published 10.03.2020

## Введение

Дофамин контролирует многие жизненно важные физиологические функции и играет важную роль в некоторых психоневрологических расстройствах, таких как шизофрения и синдром дефицита внимания и гиперактивности [17]. Дефицит дофамина является основной причиной двигательных расстройств при болезни Паркинсона [19].

Основные дофаминергические системы берут свое начало от дофаминергических нейронов ствола головного мозга, расположенных в «черной субстанции», а именно в области четверохолмия среднего мозга, являющейся составной частью экстрапирамидной системы. Нейроны темной компактной части связываются в основном с областями хвостатого ядра и скорлупы, образуя нигростриатную систему, тогда как нейроны вентральной области покрышки посылают свои аксоны в вентральную часть стриатума, включающую прилежащее ядро, а также в некоторые др. лимбические и корковые зоны, образуя мезолимбическую и мезокортикальную системы. Небольшие дофаминсодержащие клеточные группы также расположены в гипоталамусе и составляют тубероинфундибулярную дофаминергическую систему [19].

Внутринейрональный дофамин накапливается в синаптических пузырьках при помощи везикулярного моноаминового транспортера-2 [19]. Дофамин, высвобождаемый во внеклеточное пространство, выполняет свои физиологические функции посредством активации связанных с G-белком D1- и D2-подобных рецепто-

ров дофамина [16]. Частично дофамин во внеклеточном пространстве подвержен разбавлению путем диффузии и метаболической деградации. Однако основным путем выведения дофамина из внеклеточного пространства в стриатуме и прилежащем ядре является быстрая рециркуляция этого нейротрансмиттера обратно в дофаминергические терминалы с помощью  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$ -зависимого транспортера дофамина (dopamine transporter, DAT) [6, 10]. После рециркуляции в дофаминергические терминалы дофамин хранится до следующего повторного высвобождения [9, 14].

Известно, что нейротрансмиссия дофамина в дорсальном и вентральном стриатуме необходима для нормальной двигательной функции, а прогрессирующая дегенерация нейронов дофамина в этих областях является известной причиной болезни Паркинсона [25].

Для понимания основных патологических процессов, приводящих к нейропсихическим заболеваниям, и поиска новых принципов терапии с помощью различных антипсихотиков в 1996 г. группой ученых во главе с М.Г. Кароеном была разработана модель трансгенных мышей. В основу этой модели легли методики генетического таргетинга и гомологичной рекомбинации, которые приводили к полной инактивации гена, кодирующего функциональный белок-переносчик дофамина. Разработанная модель мышей получила название «DAT-КО мыши» [18]. Отсутствие данного белка блокирует захват дофамина из синаптической щели в терминальный аксон клетки, что снижает внутриклеточный дофамин на 95 % и увеличивает внеклеточный в 5 раз

по сравнению с животными дикого типа, приводя к поразительным поведенческим реакциям — гиперактивности, нарушениям когнитивных способностей и регуляции сна [19].

Группа ученых во главе с Р.Р. Гайнетдиновым в 2018 г. с помощью более современной методики редактирования генома под названием «нуклеаза-цинковые пальцы» разработала модель трансгенных крыс DAT-KO [8]. Эти крысы, как и DAT-KO мыши, лишены функционального переносчика дофамина. Помимо очевидных преимуществ, модель DAT-KO крыс имеет больший размер мозга для хирургических манипуляций и электрофизиологических записей, а также близкое физиологическое сходство с человеком. Крысы DAT-KO имеют гораздо более широкий набор хорошо зарекомендовавших себя поведенческих подходов для исследования когнитивных функций, чем DAT-KO мыши, что играет главную роль в моделировании психоневрологических состояний [15].

В той же публикации Р.Р. Гайнетдинова и др. была описана модель крыс с частично сниженным уровнем переносчика дофамина, названная «DAT-HET», или «DAT-гетерозиготы» [15]. Если у крыс DAT-KO нарушены сайты рестрикции, отвечающие за процесс трансляции на обеих аллелях гена (гомозиготное носительство мутации), то у DAT-HET модели нарушение сайта рестрикции происходило на одной аллели гена (гетерозиготное носительство мутации). Это приводило к уменьшению сайтов рестрикции функционального белка-переносчика дофамина примерно на 50 % по сравнению с животными дикого типа. Добиться данного фенотипа позволяло скрещивание модели DAT-KO с аутбредными животными, не подвергавшимися генетическому редактированию. Концентрация внеклеточного дофамина у этих животных возрастала почти в два

раза по сравнению с обычными крысами. Существенного снижения в концентрации внутриклеточного дофамина обнаружено не было, что некоторые ученые связывают с гомеостатической функцией нейронов. По немногочисленным данным, несмотря на повышенный уровень дофамина, у DAT-HET крыс не наблюдалось существенных изменений в локомоции. DAT-HET модель крыс гораздо менее изучена по сравнению с DAT-KO, но они также могут быть полезны в изучении роли и функции дофаминергической системы [15, 10, 14, 19].

Исходя из вышесказанного, **целью** исследования стало изучение поведенческих особенностей крыс модели DAT-HET, которая широко используется при изучении синдрома дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ) [7].

## Материалы и методы

Экспериментальное исследование было проведено на базе научной лаборатории кафедры физиологии и общей биологии биологического факультета Башкирского государственного университета и Санкт-Петербургского государственного университета в соответствии с Женевской конвенцией от 1985 г. и Хельсинкской декларацией о гуманном отношении к животным от 2000 г. Все животные находились в одинаковых условиях и на обычном рационе питания.

Исследование проводили на двух группах крыс. Первую группу (контрольную) составляли половозрелые крысы популяции линий Wistar, вторую (опытную) — половозрелые крысы DAT-HET. В каждой группе было по 12 животных массой тела 200–250 г. Крысы Wistar были выведены в питомнике лабораторных животных «Пушино» (Московская обл.). Модель DAT-HET была выведена в виварии Санкт-Петербургского государственного университета.

DAT-HET крысы были верифицированы с помощью методики генотипирования. При выделении ДНК использовался модифицированный метод «Алкалайн» (Hot shot method), основанный на лизирующем щелочном реагенте и специальном нейтрализующем буфере [20]. Генотипирование проводилось с помощью классического метода ПЦР. Амплификация необходимого участка проводилась с помощью специфической последовательности праймеров (Slc6a3 Cel-1 F 5'-tcctggtaaggagcagaac-3' и Slc6a3 Cel-1 R 5'-cacaggtagggaaccccca-3') и при использовании Taq-полимеразы. Для идентификации непосредственно генотипов затем проводилась реакция рестрикции с помощью фермента рестриктазы BtsI MtuI. Детекцию продуктов ПЦР проводили с помощью метода гель-электрофореза ДНК с использованием 2%-го агарозного геля.

Исследование поведения животных проводилось в утренний период (9:00–12:00). Длительность карантина составляла 5 сут. Передвижение животных в тест-системах регистрировали с помощью системы видеорегистрации Logitech HD Webcam C310 (Китай).

Для оценки ориентировочно-исследовательской активности нами был выбран тест «Открытое поле» (ОП), созданный американским исследователем Холлом в 1934 г. [12]. Данный тест является универсальным в оценке исследовательского поведения и вегетативных реакций животного [2, 3, 11]. ОП представляет собой арену в форме круга площадью 100 см<sup>2</sup> и высотой 0,4 м. Поверхность разделена на 25 квадратов, из которых 16 находятся на периферии, 9 — внутри. Крыс помещали в центр арены и в течение последующих 5-ти мин регистрировали поведенческие показатели: количество пересеченных квадратов, количество стоек, почесывания шерсти и умыывания (груминг), время отсутствия активности, количество фекальных болюсов,

оставленных животным после тестирования [2, 4, 5].

Также для наблюдения за поведением экспериментальных животных в состоянии стресса был использован тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), созданный в 1984 г. исследователями Хэндли и Митани [13]. ПКЛ используется для изучения поведения животных в условиях переменной стрессогенности. Лабиринт делится на два закрытых по бокам и спереди перегородками участка (аналоги нор) и два открытых участка, которые в естественных условиях грызуны избегают. Помещали крыс в центральную зону установки, так чтобы нос животного был направлен в сторону открытого «рукава». Стресс от новой обстановки усиливался боязнью высоты, на которую поднят ПКЛ. В течение 5-ти мин фиксировались следующие показатели: число выходов в открытые «рукава», количество актов дефекации, выглядываний вниз, время пребывания в закрытых и открытых «рукавах» и центре.

Тест-система «Экстраполяционное избегание» (ТЭИ), созданная Н. А. Бондаренко в 1985 г., была выбрана как чувствительный метод для выявления нарушений когнитивных способностей у крыс [1]. ТЭИ представлял собой цилиндр, помещенный внутрь емкости. Емкость с цилиндром заполнялась водой на 2,5 см. Температура воды 22 °С. Животное помещалось в цилиндр хвостом вниз. Оценивали показатели: латентный период двигательной активности, латентный период подныривания под край цилиндра, число и длительность аверсивных реакций в форме карабканий и прыжков внутри цилиндра. Время тестирования — 2 мин.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета статистических программ IBM SPSS Statistics. Различия признавались достоверными при  $p < 0,05$ .



## Результаты и их обсуждение

При анализе поведения животных в ОП нами было установлено, что крысы DAT-HET характеризуются большим количеством пересеченных квадратов ( $77,00 \pm 7,13$ ) и стоек ( $16,83 \pm 5,27$ ), что может свидетельствовать о повышенной двигательной и исследовательской активности по сравнению с крысами Wistar, у которых количество пересеченных квадратов и стоек составило  $42,50 \pm 6,95$  и  $8,17 \pm 3,43$  соответственно.

Проведением теста ТЭИ у крыс DAT-HET обнаружено нарушение когнитивных функций, проявившееся в увеличении латентного периода подныривания ( $17,67 \pm 6,98$  с) и числа безуспешных попыток избегания ( $11,50 \pm 2,17$ ) по сравнению с контрольной группой крыс Wistar —  $5,83 \pm 1,47$  и  $3,67 \pm 2,16$  с соответственно, а также

в снижении длительности латентного периода двигательной активности у крыс DAT-HET ( $0,50 \pm 0,84$  с) по сравнению с крысами Wistar ( $4,67 \pm 1,37$  с).

При анализе поведения животных в ПКЛ нами было установлено, что крысы DAT-HET характеризуются большим количеством выглядываний вниз ( $11,50 \pm 2,43$ ), более длительным пребыванием в открытых «рукавах» ( $34,67 \pm 9,42$  с) и меньшим временем нахождения в закрытых «рукавах» ( $177,66 \pm 22,40$  с), чем крысы Wistar, у которых количество выглядываний вниз составило  $3,83 \pm 2,23$ , время нахождения в открытых «рукавах» —  $20,17 \pm 7,11$  с, в закрытых «рукавах» —  $230,33 \pm 21,16$  с. Результаты исследования свидетельствуют о повышенной исследовательской активности, а также о меньшей тревожности крыс DAT-HET.

**Таблица 1.** Сравнение поведенческих показателей крыс Wistar и DAT-HET в тесте «Открытое поле» ( $M \pm m$ )  
**Table 1.** Comparison of the behavioural indicators of Wistar and DAT-HET rats in the “Open Field” test ( $M \pm m$ )

| Группа  | Кол-во пересеченных квадратов | Кол-во стоек       | Кол-во фекальных болюсов | Длительность неподвижности, с | Грумминг, с      |
|---------|-------------------------------|--------------------|--------------------------|-------------------------------|------------------|
| Wistar  | $42,50 \pm 6,95$              | $8,17 \pm 3,43$    | $2,33 \pm 1,21$          | $27,00 \pm 9,21$              | $26,50 \pm 5,89$ |
| DAT-HET | $77,00 \pm 7,13^*$            | $16,83 \pm 5,27^*$ | $0,83 \pm 1,32$          | $20,50 \pm 9,65$              | $23,83 \pm 5,46$ |

**Примечание:** \* — результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

**Note:** \* — the results are statistically significant compared to the control ( $p < 0.05$ ).

**Таблица 2.** Сравнение поведенческих показателей крыс Wistar и DAT-HET в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» ( $M \pm m$ )  
**Table 2.** Comparison of the behavioural indicators of Wistar and DAT-HET rats in the “Elevated plus maze” test ( $M \pm m$ )

| Группа  | Кол-во выглядываний вниз | Время пребывания в закрытых «рукавах», с | Время пребывания в открытых «рукавах», с | Время пребывания в центре, с | Кол-во актов дефекации | Число выходов в открытые «рукава» |
|---------|--------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------|------------------------|-----------------------------------|
| Wistar  | $3,83 \pm 2,23$          | $230,33 \pm 21,16$                       | $20,17 \pm 7,11$                         | $49,00 \pm 20,45$            | $1,00 \pm 1,10$        | $2,00 \pm 0,89$                   |
| DAT-HET | $11,50 \pm 2,43^*$       | $177,66 \pm 22,40^*$                     | $34,67 \pm 9,42^*$                       | $86,67 \pm 20,13^*$          | $1,00 \pm 1,26$        | $2,17 \pm 0,98$                   |

**Примечание:** \* — результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

**Note:** \* — results are statistically significant compared to the control ( $p < 0.05$ ).

**Таблица 3.** Сравнение поведенческих показателей крыс Wistar и DAT-HET в тесте «Экстраполяционное избегание» ( $M \pm m$ )  
**Table 3.** Comparison of the behavioural indicators of Wistar and DAT-HET rats in the “Extrapolation deliverance” test ( $M \pm m$ )

| Группа  | Латентный период двигательной активности, с | Число безуспешных попыток избегания | Латентный период подныривания, с |
|---------|---------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| Wistar  | $4,67 \pm 1,37$                             | $3,67 \pm 2,16$                     | $5,83 \pm 1,47$                  |
| DAT-HET | $0,50 \pm 0,84^*$                           | $11,50 \pm 2,17^*$                  | $17,67 \pm 6,98^*$               |

**Примечание:** \* — результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

**Note:** \* — the results are statistically significant compared with the control ( $p < 0.05$ ).

## Выводы

Таким образом, установленные в ходе исследования различия в двигательной, исследовательской активности и когнитивной деятельности, а также уровня тревожности между моделью крыс с измененной нейротрансмиссией дофамина (DAT-NET) и аутбредной линией крыс с нормальной нейротрансмиссией дофамина (Wistar) позволяют утверждать, что повышение концентрации дофамина в синапсе и нейроне головного мозга крыс DAT-NET приводит к изменениям в поведенческих реакциях животных. Крысы DAT-NET были более подвижны, у них наблюдалось большее количество пересеченных квадратов в тесте «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». В тесте «Экстраполяционное избегание» крысы DAT-NET показали снижение когнитивных функций, проявившееся в увеличении латентного пе-

риода подныривания и увеличении числа безуспешных попыток избегания. Повышенная двигательная активность животных и нарушение когнитивных функций, проявившиеся в вышеуказанных тестах, может доказывать, что генетически обусловленная гипофункция транспортера дофамина у этих животных изменяет траекторию функционирования нервной системы, приводя к поведенческому фенотипу сходному с симптомами таких нейродегенеративных заболеваний, как синдром дефицита внимания и гиперактивности, шизофрения и биполярное расстройство.

На основании полученных результатов можно утверждать, что крысы DAT-NET — модель умеренного повышения активности дофаминовой системы — представляют не меньший интерес для исследований механизмов патогенеза различных психоневрологических расстройств, чем крысы трансгенной модели DAT-KO.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Якимова Н.Л., Соседова Л.М. Дофамин-зависимое нарушение поведения белых крыс с интоксикацией сулемой в тесте экстраполяционного избегания. *ВСНЦ СО РАМН*. 2013;(1):130–133. [Yakimova N.L., Sosedova L.M. Dofamin-zavisimoe narushenie povedeniya belyh krysov s intoksikaciej sulemy v teste ekstrapoljacionnogo izbavleniya [Dopamine-dependent behavioral disorder of white rats with intoxication of the sublimate in the extrapolation disposal test]. *VSNTs SO RAMN [East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the RAMS]*. 2013;1:130–133. (In Russian)].
2. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения* / Пер. с англ. Е.Н. Живописцевой. М.: Высшая школа, 1991. 399 с. [Buresh Ya., Bureshova O., H'yuston D.P. *Metodiki i osnovnye eksperymenty po izucheniyu mozga i povedeniya* [Methods and main experiments on the study of the brain and behavior]. Transl. from English by E.N. Zhivopistseva. Moscow: Vysshaya shkola Publ., 1991. 399 p. (In Russian)].
3. Коплик Е.В., Салиева Р.М., Горбунова А.В. Тест открытого поля как прогностический критерий устойчивости крыс линии Вистар к эмоциональному стрессу. *Журнал высшей нервной деятельности*. 1995;45(4):775–781. [Koplik E.V., Salieva R.M., Gorbunova A.V. Test otkrytogo polya kak prognosticheskij kryterij ustojchivosti krysov linii Vistar k emocional'nomu stressu [Open field test as a prognostic criterion for the stability of Wistar rats to emotional stress]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti [J. of Higher Nervous Activity]*. 1995;45(4):775–781. (In Russian)].
4. Маркель А.Л. К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте открытого поля. *Журнал высшей нервной деятельности*. 1981;31(2):301–307. [Markel' A.L. K ocenke osnovnykh harakteristik povedeniya krysov v teste otkrytogo polya [To the assessment of the main characteristics of the behavior of rats in the open field test]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti [J. of Higher Nervous Activity]*. 1981;31(2):301–307. (In Russian)].
5. Семиохина А.Ф., Плещачева М.Г. Неспецифический груминг у крыс при решении экстраполяционной задачи. *Журнал высшей нервной деятельности*. 1989;39(2):284–291. [Semiohina A.F., Pleskacheva M.G. Nespecificheskij gruning u krysov pri reshenii ekstrapoljacionnoj zadachi [Nonspecific grooming rats in solving the extrapolation problem]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti [J. of Higher Nervous Activity]*. 1989;39(2):284–291. (In Russian)].

6. Amara S., Sonders M. Neurotransmitter transporters as molecular targets for addictive drugs. *Drug and alcohol dependence*. 1998;51:87–96.
7. Cinque S., Zoratto F., Poleggi A., et al. Behavioral Phenotyping of Dopamine Transporter Knockout Rats: Compulsive Traits, Motor Stereotypies, and Anhedonia. *Frontiers in Psychiatry*. 2018;9:43.
8. Efimova E., Gainetdinov R., Budygin E., et al. Dopamine transporter knockout rats: new experimental model in behavioral psychopharmacology research. *Neurogenetics*. 2016;30:5–15.
9. Gainetdinov R., Caron M. Monoamine transporters: From genes to Behavior. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2003;43:261–284.
10. Giros B., Jaber M., Jones S., Wightman R., Caron M. Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature*. 1996;379:606–612.
11. Gould T. *Mood and anxiety related phenotypes in mice*. New York: Humana Press Publ., 2009. 373 p.
12. Hall C. Emotional behavior in the rat. *Comparative Psychology*. 1934;22:345–352.
13. Handley S., Mithani S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behavior. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 1984;327:1–5.
14. Jones S., Gainetdinov R., Jaber M., et al. Profound neuronal plasticity in response to inactivation of the dopamine transporter. *J. Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95:4029–4034.
15. Gainetdinov R., Leo D., Sukhanov I., Zoratto F., et al. Cognitive dysfunctions, and BDNF dysregulation in dopamine transporter knock-out rats. *Neuroscience*. 2018;38:2081–2093.
16. Missale C., Nash S.R., Robinson S., Jaber M., Caron M. Dopamine receptors: From structure to function. *Physiological Reviews*. 1998;78:189–225.
17. Molinoff P., Axelrod J. Biochemistry of catecholamines. *Annual Review of Biochemistry*. 1971;41:1–48.
18. Sora I., Wichems C., Takahashi N., Li X., Zeng Z., Revay R., et al. Cocaine reward models: conditioned place preference can be established in dopamine- and in serotonin-transporter knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95:7699–7704.
19. Sotnikova T.D., Caron M.G., Gainetdinov R.R., et al. Dopamine-independent locomotor actions of amphetamines in a novel acute mouse model of Parkinson disease. *Plos Biology*. 2005;8:3.
20. Truett G., Heeger P., et al. Preparation of PCR-quality mouse genomic DNA with hot sodium hydroxide and tris (HotSHOT). *BioTechniques*. 2000;1:52–54.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Гайнетдинов Альберт Рамилевич\***, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»;  
e-mail: [alfreddd96@mail.ru](mailto:alfreddd96@mail.ru)

**Фесенко Зоя Сергеевна**, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»;  
e-mail: [zozoya07@mail.ru](mailto:zozoya07@mail.ru)

**Хисматуллина Зухра Рашидовна**, д.б.н., проф., ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»;  
e-mail: [hismatullinazr@mail.ru](mailto:hismatullinazr@mail.ru)

**Albert R. Gainetdinov\***, Bashkir State University;  
e-mail: [alfreddd96@mail.ru](mailto:alfreddd96@mail.ru)

**Zoya S. Fesenko**, Saint Petersburg State University;  
e-mail: [zozoya07@mail.ru](mailto:zozoya07@mail.ru)

**Zuhra R. Khismatullina**, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Bashkir State University;  
e-mail: [hismatullinazr@mail.ru](mailto:hismatullinazr@mail.ru)

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## ЭКСПРЕССИЯ GFAP В КОРЕ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ПРИ РАЗВИТИИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ У КРЫС С РАЗЛИЧНЫМИ РЕЗУЛЬТАТАМИ В ЛАБИРИНТЕ МОРРИСА

В.В. Криштоп<sup>1,3,\*</sup>, Т.А. Румянцева<sup>2</sup>, Д.А. Пожилов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России  
153012, Российская Федерация, Иваново, Шереметевский просп., д. 8

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России  
150000, Российская Федерация, Ярославль, Революционная ул., д. 5

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО»  
197101, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Кронверкский просп., д. 49

Состояние когнитивных функций при цереброваскулярной патологии является одной из центральных проблем современного здравоохранения. В то же время появляются убедительные данные об участии астроцитов в формировании когнитивных функций головного мозга. Нами было проведено исследование на 88-ми крысах Wistar. По результатам тестирования в водном лабиринте Морриса все животные были разделены на две подгруппы: с высоким (ВУК) и низким (НУК) уровнем способностей к пространственному обстановочному обучению в водном лабиринте Морриса. Животным экспериментальной группы (48 животных) проводилась двусторонняя перевязка обеих сонных артерий. Животные выводились из эксперимента на 21, 60 и 90-е сут после операции. Глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), маркер зрелых астроцитов, выявляли с помощью первичных поликлональных кроличьих антител на гистологических срезах прецентральной извилины головного мозга. В ходе исследования были получены данные о более выраженном снижении численной плотности тел астроцитов и количества главных отростков у животных с ВУК в ранние сроки эксперимента — на 21-е сут, а у животных с НУК в более поздние — на 90-е сут. Рост площади, занимаемой отростками астроцитов, у животных с НУК отмечен в ранние сроки — на 60-е сут после моделирования, а у животных с ВУК в более поздние сроки — на 90-е сут после моделирования. Факторный анализ подтвердил наличие двух факторов, ассоциированных с динамикой изучаемых параметров. В заключение делается вывод об альтернативных вариантах изменений в изучаемых группах: преобладании альтерационных изменений в подгруппе с ВУК в ранние сроки, а адаптационных — в более поздние. В подгруппе с НУК, наоборот, альтерационных — в более поздние, а адаптационных — в ранние.

**Ключевые слова:** астроциты, индивидуальные особенности, водный лабиринт

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

**Для цитирования:** Криштоп В.В., Румянцева Т.А., Пожилов Д.А. Экспрессия GFAP в коре больших полушарий при развитии церебральной гипоксии у крыс с различными результатами в лабиринте Морриса. *Биомедицина*. 2020;16(1):89–98. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-89-98>

Поступила 22.08.2019

Принята после доработки 06.12.2019

Опубликована 10.03.2020

## GFAP EXPRESSION IN THE CEREBRAL CORTEX DURING THE DEVELOPMENT OF CEREBRAL HYPOXIA IN RATS SHOWING DIFFERENT RESULTS IN THE MORRIS WATER MAZE

Vladimir V. Chrishtop<sup>1,3,\*</sup>, Tatyana A. Rumyantseva<sup>2</sup>, Dmitry A. Pozhilov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Ivanovo State Medical Academy of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation  
153012, Russian Federation, Ivanovo, Sheremet'evskiy avenue, 8*

<sup>2</sup> *Yaroslavl State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation  
150000, Russian Federation, Yaroslavl, Revolutsionnaya str., 5*

<sup>3</sup> *ITMO University  
197101, Russian Federation, Saint Petersburg, Kronverkskiy avenue, 49*

The state of cognitive functions in cerebrovascular disorders is one of the most urgent healthcare problems. Recently obtained data convincingly indicate the participation of astrocytes in the formation of cognitive functions of the brain. We conducted a study on 88 Wistar rats. Following the results of testing the rats in a Morris water maze, all animals were divided into two subgroups: those with a high (HLA) and low (LLA) level of spatial situational learning abilities in the Morris water maze test. The animals in the experimental group (48 animals) underwent bilateral ligation of both carotid arteries. The animals were removed from the experiment on the 21st, 60th and 90th day after the operation. Glial fibrillar acidic protein (GFAP), a marker of mature astrocytes, was detected using primary polyclonal rabbit antibodies on histological sections of the precentral gyrus of the brain. Data were obtained on a more pronounced decrease in the numerical density of astrocyte bodies and the number of astrocyte main processes in HLA and LLA animals in earlier (on the 21st day) and later (on the 90th day) stages of the experiment, respectively. The growth of the area occupied by the astrocyte processes occurred earlier in HLA animals (on the 60th day after the simulation) compared to LLA animals (on the 90th day after the simulation). The conducted factor analysis confirmed the presence of two factors associated with the dynamics of the studied parameters. The conclusion is made about alternative variants of changes in the studied groups. The HLA subgroup predominantly demonstrated changes of an alterational character in earlier experimental stages, while adaptive changes were observed in the later stages of the experiment. Conversely, in the LLA subgroup, alterations and adaptations occurred in later and earlier experimental stages, respectively.

**Keywords:** astrocytes, individual features, water maze

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

**For citation:** Chrishtop V.V., Rumyantseva T.A., Pozhilov D.A. GFAP Expression in the Cerebral Cortex during the Development of Cerebral Hypoxia in Rats Showing Different Results in the Morris Water Maze. *Journal Biomed.* 2020;16(1):89–98. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-89-98>

*Submitted 22.08.2019*

*Revised 06.12.2019*

*Published 10.03.2020*

### Введение

Научные представления о роли астроцитов в обеспечении функций коры больших полушарий головного мозга в последнее время подвергаются значительной ревизии. От парадигмы опорных клеток акцент был сначала смещен в сторону трофического обеспечения нейронов и поддержания

электролитного баланса. В последующих исследованиях была выявлена важная роль в регуляции миграции прогениторных клеток нейрогенного дифферона. В настоящее время появляются исследования, посвященные участию астроцитов в структурном формировании синапсов, в синтезе, захвате и высвобождении нейро- и глиотрансмит-



теров как в синапсах, так и в экstrasинаптических участках [1]. В частности, высвобождение астроцитарного глутамата может активировать экstrasинаптические нейрональные NMDA-рецепторы, что приводит к возникновению медленных внутринейрональных токов [12]. На организменном уровне эти функции астроцитов оказывают существенное влияние на работу нейрональных сетей и когнитивную функцию животных, выявляемую в водном лабиринте Морриса [11]. Со стороны микроархитектоники астроцитарной сети показано, что в интактном мозге большинство клеток астроглии своими отростками «контролируют» определенный участок ткани — домен, не перекрывающийся с доменами соседних астроцитов, при этом даже возникновение глиоза при постепенно развивающемся нейродегенеративном процессе протекает по изоморфному типу, с сохранением доменной организации, без нарушения структуры глиальной сети [2]. Таким образом, формируется концепция о центральной роли астроцитов в формировании высшей нервной деятельности [16].

Вместе с тем состояние когнитивных функций при цереброваскулярной патологии является одной из центральных проблем современного здравоохранения [7], в т. ч. и с позиций этиологического фактора, обуславливающего протекание заболевания [13]. К сожалению, методы социальной медицины не позволяют дифференцировать влияние соматических факторов, ассоциированных с высоким уровнем когнитивных способностей факторов, от культурных или социальных, обусловленных уровнем развития интеллекта [9].

**Цель работы** — изучить динамику морфометрических показателей астроцитов коры больших полушарий головного мозга при моделировании церебральной гипоксии у крыс с различным уровнем способностей к обучению.

## Материалы и методы

Общее количество животных, включенных в эксперимент, составило 106 крыс популяции линий Wistar конвенционального статуса массой 180–220 г, полученных из вивария кафедры фармакологии ЯГМУ. Длительность карантина для животных составила 14 сут. Крысы содержались в клетках группами по 5 особей. В качестве подстилки использовали древесные опилки нехвойных пород дерева. Температура воздуха в помещениях вивария поддерживалась в диапазоне 18–20 °C при относительной влажности 60–70%. Животные содержались в стандартных условиях на рационе вивария и были разделены на три группы: первая, контрольная, — 24 (по 12 интактных самцов и самок), у животных второй группы (n=66) моделировали субтотальную ишемию головного мозга, из которых выжило 48 (24 самца и 24 самки). Третью группу составили ложнооперированные животные (8 самцов и 8 самок). Непосредственно исследование и анализ соответствующих показателей были выполнены на 88-ми животных (44 самца и 44 самки) из-за гибели части животных второй группы.

Эксперимент одобрен Этическим комитетом ФБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России (протокол № 8 от 24.03.2016 г.) и выполнен в соответствии с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», Хельсинкской декларации 1975 г. и ее пересмотренного варианта 2000 г. и этических норм и рекомендаций по гуманному обращению с животными, используемыми в экспериментальных и других научных целях (Приказ Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики»). Для оценки состояния когнитивных функций (способности к пространственному обучению) использовался водный лабиринт Морриса [3]. По результатам тестирования в водном

лабиринте Морриса прооперированные животные и животные контрольной группы были разделены на две подгруппы: с высоким (ВУК) и низким уровнем развития когнитивных функций (НУК).

Моделирование субтотальной ишемии головного мозга проводили при помощи постоянной одномоментной необратимой билатеральной окклюзии общих сонных артерий [1]. Операция проводилась под кратковременным внутривенным наркозом золетилом из расчета 20–40 мг/кг массы подопытного животного, который вводили за 40 мин до начала моделирования [4]. Наркоз верифицировали по исчезновению реакции на болевые раздражители (укол в лапу) и угнетению роговичного рефлекса. После удаления шерстяного покрова животного и проведения антисептической обработки операционного поля по средней линии шеи проводили разрез кожи и мягких тканей длиной около 3–4 см, открывая доступ к сосудам. Затем тупым способом выделялись левый и правый сосудисто-нервные пучки. Препарировали общие сонные артерии, не затрагивая прилежащих нервных стволов и сплетений. На каждую освобожденную от соединительной ткани и прилежащих структур артерию накладывали по 2 лигатуры на расстоянии 2–3 мм друг от друга. До и сразу после окклюзии общих сонных артерий дистальнее места наложения лигатуры фиксировали наличие или отсутствие кровотока при помощи ультразвукового сканера «Сономед-300 М» с линейным датчиком 8 МГц, также состояние кровотока фиксировалось спустя 24 ч после операции. Животным ложнооперированной группы подводились лигатуры под общие сонные артерии без дальнейшего их затягивания. Рана послойно ушивалась, операционное поле обрабатывалось раствором антисептика. После операции животных помещали в индивидуальные клетки под согревающую лампу до мо-

мента выхода из наркоза. Далее проводилась ежедневная регистрация выживаемости животных. В группе оперированных погибло 18 животных. В группе ложнооперированных животных смертельных исходов не зафиксировано.

Выживших после операции животных (24 самца и 24 самки) выводили из эксперимента золетиловым наркозом [5] спустя 21, 60 и 90 сут после операции (по 16 животных, из которых 8 — с ВУК и 8 — с НУК). Ложнооперированных животных (8 самцов и 8 самок) выводили из эксперимента спустя 21 день после хирургического вмешательства. Фрагмент прецентральной извилины головного мозга фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине («БиоВитрум»), дальнейшая проводка осуществлялась промежуточными смесями «Блик» («БликМедиклПродакшн»). Срезы толщиной 5 мкм изготавливали с помощью HM 450 Sliding Microtome («Карл Цейс»). Глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), маркер зрелых астроцитов, выявляли с помощью первичных поликлональных кроличьих антител (ab16997, UK, разведение 1:200) и вторичных антител (ab97051, UK, 1:1000) с пероксидазной меткой на парафиновых парасагитальных срезах мозга. Детекцию пероксидазы производили DAB Substrate Kit (ab64238). Срезы докрашивали гематоксилином Майера, промывали в воде, обезжизняли, заключали в канадский бальзам. Для контроля и исключения артефактов при выполнении реакции часть препаратов обрабатывали только вторичными антителами без нанесения первичных антител.

Микроскопировали при помощи светового микроскопа Optica DM-20 со встроенной камерой. Маркер GFAP выявляется в цитоплазме и в отростках астроцитов. На каждом срезе в 50-ти полях зрения оценивались численная плотность распределения астроцитов (ед./мм<sup>2</sup>) и площадь распределения отростков астроцитов (мкм<sup>2</sup>).

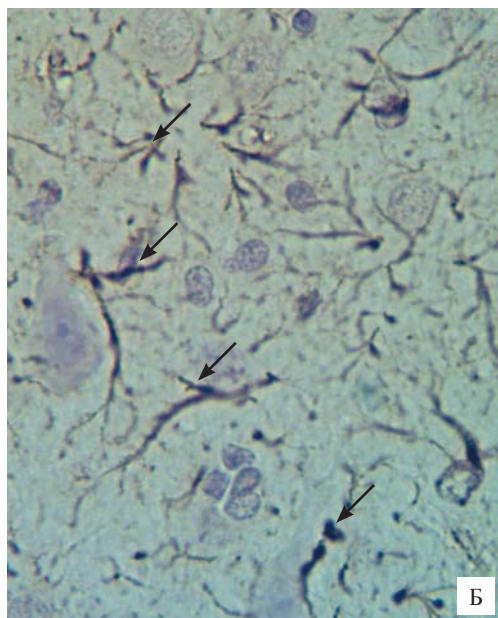
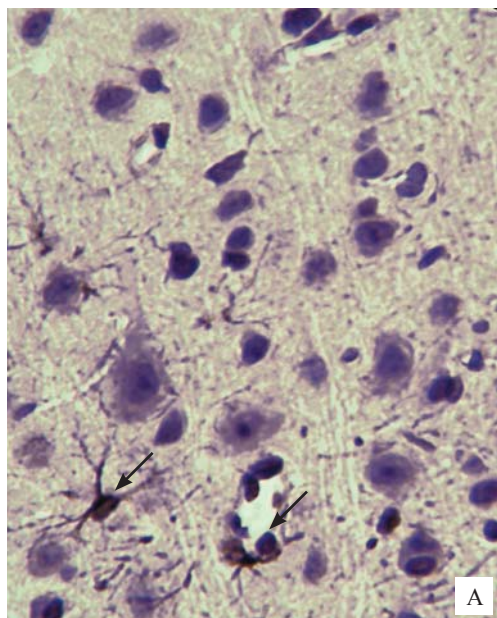
Морфометрия осуществлялась с использованием программного обеспечения (ImageJ).

Статистическая обработка данных включала вычисление среднеарифметического значения, его ошибки, оценки амплитуды вариационного ряда. О значимости различий судили по величине t-критерия Стьюдента и считали их значимыми при  $p < 0,05$ . Взаимосвязь изменения средних оценивали при помощи коэффициента корреляции Кендалла ( $\tau$ ). По полученным средним значениям для каждого срока исследования для подгрупп животных с ВУК и с НУК проводился факторный анализ при помощи Statistica 6.0. В качестве метода выделения факторов был использован метод главных компонент. После приведе-

нием к главным компонентам была проведена нормировка при помощи ортогонального метода «варимакс нормализованных значений», последний максимизирует разброс квадратов нагрузок для каждого фактора, что приводит к увеличению больших и уменьшению малых значений факторных нагрузок.

## Результаты исследований

У интактных животных астроциты после проведения иммуногистохимической реакции визуализируются как клетки округлой или полигональной формы со светлым ядром и с 3–5 извитыми ветвящимися отростками (рис. 1А). В ходе исследования были получены данные о прогрессирующем снижении численной



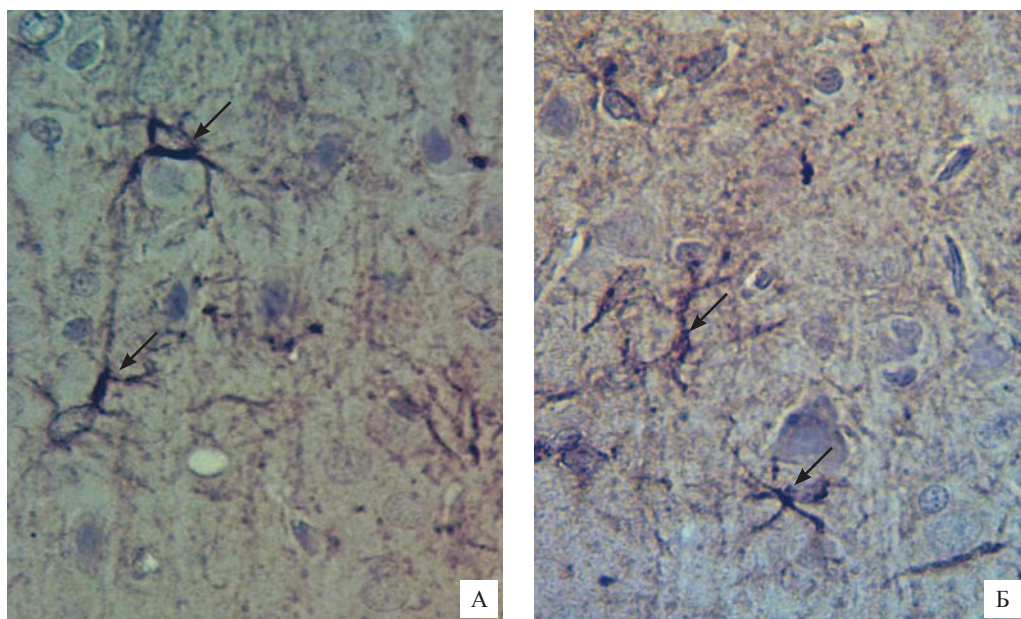
**Рис. 1.** Типичная морфологическая картина для обеих подгрупп: А — типичная морфологическая картина коры прецентральной извилины для обеих подгрупп интактных и ложно оперированных животных; Б — кора прецентральной извилины головного мозга спустя 21 сут после двусторонней перевязки сонных артерий. Снижение количества GFAP-позитивных клеток в поле зрения. Окраска гематоксилином и эозином; ув.  $\times 400$ . Фрагмент фотографии.

**Fig. 1.** Characteristic changes in the precentral gyrus cortex in both subgroups: А — changes in the precentral gyrus cortex in both subgroups — intact animals and false-operated animals; Б — the cortex of the precentral gyrus of the brain 21 days after the lateral ligation of the carotid arteries. Hematoxylin and eosin staining; magn.  $\times 400$ . A photograph fragment.

плотности тел астроцитов после операции, более выраженной спустя три недели эксперимента (на 72% у подгруппы животных с ВУК и только на 31% у животных с НУК). Метка на GFAP слабо маркировала тела астроцитов, их отростки имели неправильную форму, в которых отмечались узловатые GFAP-позитивные участки (рис. 1Б). В дальнейшем падение численной плотности по сравнению с предыдущим сроком эксперимента продолжалось: на 22% у животных с ВУК и на 43% у животных с НУК, спустя 60 сут после операции; и на 33 и 35% — спустя 90 сут эксперимента соответственно (табл. 1). Аналогично ведет себя количество отростков, отходящих от тела астроцита. В начале наблюдения показатель в подгруппе животных с ВУК значительно снижается (на 21-е сут — на 36% от контроля,  $p<0,05$ ),

у животных с НУК снижение менее значительное (на 21-е сут — на 21% от контроля,  $p<0,05$ ), на 60-е сут исследования различия с предыдущим сроком недостоверны. На 90-е сут исследования происходит значительное снижение количества отростков, отходящих от тела клетки, у животных НУК (на 16% по сравнению с предыдущим сроком,  $p<0,05$ ), и увеличение их количества у животных с ВУК (на 16% по сравнению с предыдущим сроком,  $p<0,05$ ). Морфологическая картина на 60-е сут исследования характеризуется снижением экспрессии GFAP и асимметричным скоплением в некоторых отростках первого порядка, спустя 90 сут церебральной гипоксии морфологические изменения в экспрессии GFAP прогрессируют (рис. 2).

Представленные выше параметры отражают выраженность нейродегенеративных



**Рис. 2.** Типичные для обеих подгрупп изменения в коре прецентральной извилины головного мозга после двусторонней перевязки сонных артерий: А — спустя 60 сут; Б — спустя 90 сут. Снижение количества GFAP-позитивных клеток в поле зрения. Окраска гематоксилином и эозином; ув.  $\times 400$ . Фрагмент фотографии.

**Fig. 2.** Characteristic changes in the precentral gyrus cortex in both subgroups after the lateral ligation of the carotid arteries: А — after 60 days; Б — after 90 days. Hematoxylin and eosin staining; magn.  $\times 400$ . A photograph fragment.



процессов со стороны астроцитов и указывают на большее повреждающее воздействие на астроциты животных с ВУК через 20 сут после операции, а у животных с НУК — на 90-е. Также в пользу этого предположения свидетельствует сохраняющееся на протяжении всех сроков после операции достоверное различие между подгруппами животных с разным уровнем когнитивных способностей, вплоть до 90-х сут. Это, на наш взгляд, отражает конституциональную основу типологических особенностей, выявляемых при тестировании в водном лабиринте.

Изменения площади распределения отростков астроцитов до ветвления и отростков второго и дальнейших порядков, вероятно, связаны с развитием адаптационно-компенсаторных процессов. Несмотря

на то, что в ходе эксперимента сохраняется общая тенденция к снижению средней площади покрытия отростками первого порядка астроцита, прирост этого параметра по сравнению с показателями предыдущего срока у подгруппы животных с НУК отмечается на более ранних этапах (на 60-е сут эксперимента на 57%), а у подгруппы животных с ВУК — в более поздние (на 90-е сут эксперимента на 10%), что находится в обратной зависимости с показателями, характеризующими альтерацию астроцитов. Динамика площади, покрываемой отростками второго и третьего порядков, во многом аналогична динамике показателей средней площади, покрываемой отростками астроцитов до первого ветвления (табл. 2). Это подтверждают высокие коэффициенты корреляции Кендалла

**Таблица 1.** Численная плотность астроцитов и количество их главных отростков

**Table 1.** Indicators of the numerical density of astrocytes and the number of their main processes

| Сутки эксперимента                      | Численная плотность распределения астроцитов (шт./мм <sup>2</sup> ) |                       | Количество отростков первого порядка |                      |
|-----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|----------------------|
|                                         | подгруппа с ВУК                                                     | подгруппа с НУК       | подгруппа с ВУК                      | подгруппа с НУК      |
| Контроль                                | 124,6±6,1 <sup>#</sup>                                              | 101,8±4,5             | 3,9±0,1                              | 4,0±0,2              |
| Ложно оперированные животные (21-е сут) | 127,2±6,8                                                           | 103,7±5,3             | 3,9±0,1                              | 3,9±0,2              |
| 21-е сут                                | 35,1±3,2 <sup>**</sup>                                              | 69,7±6,1 <sup>*</sup> | 2,5±0,2 <sup>**</sup>                | 3,1±0,2 <sup>*</sup> |
| 60-е сут                                | 27,5±2,9 <sup>**</sup>                                              | 39,5±3,1 <sup>*</sup> | 2,5±0,2 <sup>**</sup>                | 3,1±0,3 <sup>*</sup> |
| 90-е сут                                | 18,2±1,5 <sup>**</sup>                                              | 25,7±2,8 <sup>*</sup> | 2,9±0,1 <sup>**</sup>                | 2,6±0,1 <sup>*</sup> |

**Примечание:** \* — различия с контрольной группой достоверны; <sup>#</sup> — различия с альтернативной подгруппой достоверны.

**Note:** \* — differences with the control group are significant; <sup>#</sup> — differences with an alternative subgroup are significant.

**Таблица 2.** Морфометрические показатели площади отростков астроцитов

**Table 2.** Morphometric indices of the astrocyte process area

| Сутки эксперимента                      | Площадь, покрываемая отростками до первого ветвления (мкм <sup>2</sup> ) |                     | Площадь, покрываемая отростками второго и третьего порядков (мкм <sup>2</sup> ) |                     |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
|                                         | подгруппа с ВУК                                                          | подгруппа с НУК     | подгруппа с ВУК                                                                 | подгруппа с НУК     |
| Контроль                                | 183±9                                                                    | 189±7               | 578±12 <sup>#</sup>                                                             | 628±12              |
| Ложно оперированные животные (21-е сут) | 180±9                                                                    | 184±8               | 571±12                                                                          | 3,9±0,2             |
| 21-е сут                                | 155±8 <sup>#</sup>                                                       | 130±7 <sup>*</sup>  | 650±13 <sup>#</sup>                                                             | 321±11 <sup>*</sup> |
| 60-е сут                                | 138±8 <sup>**</sup>                                                      | 204±10              | 434±12 <sup>*</sup>                                                             | 424±11 <sup>*</sup> |
| 90-е сут                                | 152±8 <sup>*</sup>                                                       | 168±11 <sup>*</sup> | 264±12 <sup>*</sup>                                                             | 282±12 <sup>*</sup> |

**Примечание:** \* — различия с контрольной группой достоверны; <sup>#</sup> — различия с альтернативной подгруппой достоверны.

**Note:** \* — differences with the control group are significant; <sup>#</sup> — differences with the alternative subgroup are significant.



между этими параметрами (для обеих изучаемых подгрупп  $\tau=1$ ).

В пользу предположения о связи рассматриваемых изменений с адаптационно-компенсаторными процессами также свидетельствует исчезновение достоверных различий между изучаемыми подгруппами в поздние сроки эксперимента: на 60-е и 90-е сут эксперимента для площади, покрываемой отростками второго и третьего порядков, и на 90-е сут исследования — для площади, покрываемой отростками астроцитов до первого ветвления.

Вышеописанные изменения характерны для группы оперированных животных. Показатели группы ложнооперированных спустя три недели после вмешательства не имеют достоверных отличий от показателей интактных животных.

Наше предположение о разном характере фактора, вызывающего изменения со стороны площади покрытия отростков астроцитов, и фактора, связанного с уменьшением численной плотности распределения астроцитов и количеством отростков первого порядка, подтверждается результатами факторного анализа. Последний выявляет два фактора, суммарно описывающих 95 % вариаций средних значений изучаемых

параметров. Первый из этих факторов в большей степени коррелирован с численной плотностью распределения астроцитов и количеством отростков первого порядка, а второй — с показателями площади распределения отростков (табл. 3).

### Обсуждение результатов

Выявленные особенности отражают характер приспособительных реакций астроцитов и в целом соответствуют данным литературы. При ишемии головного мозга нарушается как нейронный, так и астроцитарный метаболизм [10], в т.ч. такие нейропротекторно-астроцитарные функции, как поглощение глутамата, ионов  $K^+$  и устранение свободных радикалов. Вследствие этого во время ишемии и реперфузии ЦНС астроциты могут либо уменьшить, либо усугубить повреждение нейронов в зависимости от длительности воздействия или постишемического этапа [14]. Одним из таких защитных механизмов, наблюдаемых спустя 7 сут после двусторонней перевязки сонных артерий, является формирование нейроно-глиоваскулярных комплексов — увеличение числа периваскулярных форм астроцитов и нейронов. Со стороны главных отрост-

**Таблица 3.** Результаты факторного анализа

**Table 3.** Factor analysis results

| Изучаемый параметр                                                              | Подгруппа животных | Факторные нагрузки |             |
|---------------------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
|                                                                                 |                    | фактор А           | фактор Б    |
| Численная плотность распределения астроцитов (шт/мм <sup>2</sup> )              | ВУК                | –0,37              | <b>0,91</b> |
|                                                                                 | НУК                | –0,67              | <b>0,69</b> |
| Количество отростков первого порядка                                            | ВУК                | 0,03               | <b>0,99</b> |
|                                                                                 | НУК                | –0,59              | <b>0,77</b> |
| Среднее значение факторной нагрузки                                             |                    | –0,39              | <b>0,84</b> |
| Площадь, покрываемая отростками до первого ветвления (мкм <sup>2</sup> )        | ВУК                | <b>0,95</b>        | –0,23       |
|                                                                                 | НУК                | <b>0,969</b>       | –0,21       |
| Площадь, покрываемая отростками второго и третьего порядков (мкм <sup>2</sup> ) | ВУК                | <b>0,96</b>        | –0,22       |
|                                                                                 | НУК                | <b>0,96</b>        | –0,22       |
| Среднее значение факторной нагрузки                                             |                    | <b>0,956</b>       | –0,22       |
| Общая дисперсия                                                                 |                    | 4,58               | 3,07        |
| Доля общей дисперсии, объясняемая фактором                                      |                    | 57 %               | 38 %        |

ков, прилежащих к телу астроцитов, было отмечено утолщение и рост концентрации GFAP. В остальной части главных и других отростков астроцитов GFAP+структуры выглядели более истонченными [6].

Кроме того, после временной очаговой ишемии головного мозга доля жизнеспособных и метаболически активных астроцитов в ишемическом ядре остается значительной и после реперфузии, на ранних стадиях последствия ишемического повреждения, таким образом, могут быть обратимы [15]. По данным литературы, при моделировании ишемии головного мозга площадь, занимаемая отростками, сначала снижается, а на 21-й день — возрастает на 35%, что рассматривается авторами как проявление защитной функции астроцитов по отношению к нейронам [2]. Эти закономерности создают морфологический базис, объясняющий выявленную нами ранее достоверно большую гибель животных с высокими когнитивными способностями после двусторонней окклюзии

сонных артерий в первые несколько суток после операции [5].

## Выводы

1. Альтерационные изменения астроцитов — снижение численной плотности тел астроцитов и количества главных отростков у животных с высоким уровнем способностей к пространственному обстановочному обучению в водном лабиринте Морриса — более выражены в ранние сроки эксперимента (на 21-е сут), а у животных с низким уровнем способностей в более поздние — на 90-е сут.

2. Развитие компенсаторной реакции в виде роста площади, занимаемой отростками астроцитов у животных с низким уровнем способностей к пространственному обстановочному обучению в водном лабиринте Морриса, более выражено на 60-е сут после моделирования, а у животных с высоким уровнем способностей в более поздние сроки — на 90-е сут после моделирования.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Бонь Е.И., Максимович Н.Е. Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга. *Биомедицина*. 2018;(2):9–71. [Bon' E.I., Maksimovich N.E. Sposoby modelirovaniya i morfofunkcional'nye markery ishemii golovno-go mozga [Methods of modeling and morphofunctional markers of cerebral ischemia]. *Biomedicine*. 2018;(2):59–71. (In Russian)].
2. Воронков Д.Н., Сальникова О.В., Худоевков Р.М. Иммуноцитохимические и морфометрические изменения астроглии в перифокальной зоне моделируемого инфаркта мозга. *Анналы неврологии*. 2017;11(1):40–46. [Voronkov D.N., Sal'nikova O.V., Khudoerkov R.M. Immunocytohimicheskie i morfo-metricheskie izmeneniya astroglii v perifokal'noj zone modeliruемого infarkta mozga [Immunocytochemical and morphometric changes in astroglial cells in the perifocal zone of the cerebral infarction model]. *Annals neurology*. 2017;11(1):40–46. (In Russian)].
3. Ивлиева А.Л., Петрицкая Е.Н., Рогаткин Д.А., Демин В.А. Методические особенности применения водного лабиринта Морриса для оценки когнитивных функций у животных. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2016;102(1):3–17. [Ivlieva A.L., Petritskaya E.N., Rogatkin D.A., Demin V.A. Metodicheskie osobennosti primeneniya vodnogo labirinta Morrisa dlya ocenki kognitivnykh funkciy u zhivotnykh [Methodical features of the application of Morris water maze for estimation of cognitive functions in animals]. *Russian physiological journal named after I.M. Sechenov*. 2016;102(1):3–17. (In Russian)].
4. Кадомцев Д.В., Пасечникова Е.А., Голубев В.Г. Золетил-ксилазиновый наркоз в экспериментах у крыс. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015;(5):56–57. [Kadomtsev D.V., Pasechnikova E.A., Golubev V.G. Zoletil-ksilazinovyy narkoz v eksperimentah u kryс [Zoletil-xylazine anesthesia experiments in rats]. *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovaniy [International journal of applied and fundamental research]*. 2015;(5):56–57. (In Russian)].
5. Криштоп В.В., Пахрова О.А., Румянцева Т.А. Развитие перманентной гипоксии головного мозга у крыс в зависимости от индивидуальных особенностей высшей нервной деятельности и пола. *Медицинский вестник Северного Кавказа*.

- 2018;13(4):654–659. [Chrishtop V.V., Pakhrova O.A., Rumyantseva T.A. Razvitiye permanentnoj gipoksii golovnogogo mozga u krysa v zavisimosti ot individual'nyh osobennostej vysshej nervnoj deyatel'nosti i pola [Dynamics of permanent cerebral hypoxia of rats depending on individual features of higher nervous activity and sex]. *Meditsinskij vestnik Severnogo Kavkaza [Medical Bulletin of the North Caucasus]*. 2018;13(4):654–659. (In Russian)].
6. Наумов Н.Г., Дробленков А.В. Реактивные изменения нейронов и астроцитов прилежащего ядра головного мозга после ограничения кровотока у крыс. *Вестник Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого*. 2016;6(97):143–147. [Naumov N.G., Drobленkov A.V. Reaktivnye izmeneniya neyronov i astrocitov prilozhashchego yadra golovnogogo mozga posle ogranicheniya krovotoka u krysa [Reactive changes of neurons and astrocytes in the nucleus accumbens after blood flow restriction in rats]. *Bulletin of Novgorod State University named after Yaroslav-the-Wise*. 2016;6(97):143–147. (In Russian)].
  7. Табеева Г.Р. Роль цереброваскулярной патологии в развитии деменции смешанного генеза. *Русский медицинский журнал*. 2018;12(1):16–20. [Tabeeva G.R. Rol' cerebrovaskulyarnoj patologii v razvitiі demencii smeshannogo genеза [Role of cerebrovascular disease in the development of mixed dementia]. *Russian medical journal*. 2018;12(1):16–20. (In Russian)].
  8. Dallérac G., Rouach N. Astrocytes as new targets to improve cognitive functions. *Prog. Neurobiol.* 2016;144:48–67. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2016.01.003.
  9. Der G., Deary I.J. Reaction times match IQ for major causes of mortality: Evidence from a population based prospective cohort study. *Intelligence*. 2018;69:134–145. DOI: 10.1016/j.intell.2018.05.005.
  10. Hagberg A., Qu H., Saether O., Unsgard G., Haraldseth O., Sonnewald U. Differences in neurotransmitter synthesis and intermediary metabolism between glutamatergic and GABAergic neurons during 4 hours of middle cerebral artery occlusion in the rat: the role of astrocytes in neuronal survival. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2001;21:1451–1463.
  11. Sardinha V.M., Guerra-Gomes S., Caetano I., Tavares G., Martins M., Reis J.S., et al. Astrocytic signaling supports hippocampal-prefrontal theta synchronization and cognitive function. *Glia*. 2017;65(12):1944–1960. DOI: 10.1002/glia.23205.
  12. Sims R.E., Butcher J.B., Parri H.R., Glazewski S. Astrocyte and Neuronal Plasticity in the Somatosensory System. *Neural Plast.* 2015;73:2014. DOI: 10.1155/2015/732014.
  13. Sörberg W.A., Allebeck P., Gustafsson J., et al. Childhood I.Q. and mortality during 53 years' follow-up of Swedish men and women. *J. Epidemiol. Community Health*. 2018;72:926–932. DOI: 10.1136/jech-2018-210675.
  14. Swanson R.A., Kauppinen T.M. Astrocyte influences on ischemic neuronal death. *Curr. Mol. Med.* 2004;4:193–205.
  15. Thorén A.E., Helps S.C., Nilsson M., Sims N.R. Astrocytic function assessed from 1-14C-acetate metabolism after temporary focal cerebral ischemia in rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2005;25:440–450.
  16. Vasile F., Dossi E., Rouach N. Human astrocytes: structure and functions in the healthy brain. *Brain Struct. Funct.* 2017;222(5):2017–2029. DOI: 10.1007/s00429-017-1383-5.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Криштоп Владимир Владимирович\***, к.м.н., ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России; ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО»;  
e-mail: [chrishtop@mail.ru](mailto:chrishtop@mail.ru)

**Румянцева Татьяна Анатольевна**, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России;  
e-mail: [rum-yar@mail.ru](mailto:rum-yar@mail.ru)

**Пожилов Дмитрий Алексеевич**, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России;  
e-mail: [dmitry.oldman@yandex.ru](mailto:dmitry.oldman@yandex.ru)

**Vladimir V. Chrishtop\***, Cand. Sci. (Med.), Ivanovo State Medical Academy of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; ITMO University;  
e-mail: [chrishtop@mail.ru](mailto:chrishtop@mail.ru)

**Tatyana A. Rumyantseva**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Yaroslavl State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation;  
e-mail: [rum-yar@mail.ru](mailto:rum-yar@mail.ru)

**Dmitry A. Pozhilov**, Yaroslavl State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation;  
e-mail: [dmitry.oldman@yandex.ru](mailto:dmitry.oldman@yandex.ru)

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## ПРАВИЛА НАПРАВЛЕНИЯ, РЕЦЕНЗИРОВАНИЯ И ОПУБЛИКОВАНИЯ РУКОПИСЕЙ НАУЧНЫХ РАБОТ В ЖУРНАЛЕ «БИОМЕДИЦИНА»

### 1. Порядок направления и опубликования рукописей в рецензируемом издании

1.1. Журнал «Биомедицина» публикует научные работы обзорного, экспериментального и учебно-методического плана, не публиковавшиеся ранее в других изданиях. Печатаются статьи, посвящённые биологическому моделированию, обеспечению репрезентативности, воспроизводимости и экстраполяции на человека данных, полученных в биомедицинских экспериментах на животных. Приоритет отдаётся статьям по разработке и внедрению новых биомедицинских методов и технологий. Публикуются работы по конструированию и внедрению в лабораторную практику новых видов животных-моделей (трансгенных, нокаутных, эпигеномных), представляющих ценность для биомедицинских исследований, а также их генетической, эпигенетической, микробиологической стандартизации в соответствии с рекомендациями GLP, GMP и российскими нормативами. Уделяется внимание научным трудам, посвящённым экспериментальной и спортивной фармакологии, фармаconutриентам, восстановительной медицине и биомедицинским аспектам клинической фармакологии.

#### 1.2. Рубрикация журнала:

- Обзоры;
- Оригинальные статьи;
- Краткие сообщения;
- Практикум;
- Нормативные документы.

В рубрике «Обзоры» публикуются обзоры научной литературы по темам, соответствующим профилю журнала, методологические статьи (максимальный объём рукописи — до 12 стр., максимальное количество ссылок — до 50).

В рубрике «Оригинальные статьи» печатаются труды, отражающие результаты завершённых исследований (до 10 стр., до 25 ссылок).

В «Кратких сообщениях» приводятся завершённые фрагменты работ, представля-

ющие самостоятельный интерес (до 4 стр., до 15 ссылок).

«Практикум» — учебно-методическая рубрика, где помещаются описания используемых в биомедицине методик, новых технологий (до 6 стр., до 10 ссылок).

В рубрике «Нормативные документы» печатаются правила обращения с лабораторными животными, отечественные и международные законодательные акты, регламентирующие использование биомоделей в экспериментах (до 3 стр.).

#### 1.3. Актуальные разделы журнала:

- Новые биомедицинские технологии;
- Релевантное и альтернативное биомоделирование;
- Методы биомедицинских исследований;
- Лабораторные животные-биомодели, их генетика и эпигенетика;
- Доклинические исследования в биомедицине;
- Клинические исследования новых биомедицинских технологий;
- Работоспособность и выносливость в спортивной биомедицине;
- Новые регуляторные пептиды;
- Фармаconutриенты в спортивном питании;
- Информационные материалы и нормативные документы.

#### 1.4. Общие требования к оформлению

1.4.1. Статью следует представлять в двух экземплярах с печатной и электронной версией текста, набранной в программе Microsoft Word шрифтом Times New Roman, кегль 12 на одной стороне листа с интервалом 1 между строками и полями 2,5 см со всех сторон. Нумерация страниц — сверху по центру (на первой странице номер не проставляется).

#### 1.4.2. На первой странице следует указать:

- предполагаемый раздел журнала;
- название работы;
- инициалы и фамилии авторов;
- названия учреждений, в которых была проведена работа, их полные адреса с почтовыми индексами.

Далее печатается реферат (не более 250 слов) и ключевые слова (не более 6 слов). Затем — информация о конфликте интересов, об источниках финансирования работы, благодарности (при наличии).

Название работы, ФИО авторов, названия учреждений и адреса, реферат и ключевые слова, информация о конфликте интересов, об источниках финансирования работы, благодарности (при наличии) переводятся на английский язык.

Латинские названия по тексту должны быть выделены *курсивом*.

1.4.3. В конце статьи приводится список цитированной литературы (см. п. 1.4.10 «Литература»), осуществляется его транслитерация и перевод на английский язык (раздел «References», согласно требованиям «Scopus»), проставляются собственноручные подписи всех авторов рукописи.

На последнем листе печатаются сведения об авторах — ФИО (полностью) всех авторов, место работы каждого (название учреждения), учёная степень и звание (при наличии), адрес электронной почты.

Отдельно указывается автор (символом \* после фамилии), ответственный за переписку, и его мобильный телефон (только для связи с редакцией, не публикуется).

Сведения об авторах переводятся на английский язык.

1.4.4. К рукописи прилагают сопроводительное письмо от учреждения, направившего работу, содержащее разрешение на публикацию в открытой печати (или копию экспертного заключения).

1.4.5. Статьи, написанные по результатам экспериментальных исследований, должны (если это возможно) строиться по схеме: «Введение», «Материалы и методы», «Результаты исследований», «Обсуждение результатов», «Выводы», «Список литературы». Для работ, предназначенных для рубрики «Краткие сообщения», раздел «Обсуждение результатов» необязателен, а количество литературных ссылок должно быть минимальным. Форма изложения обзорных и теоретических статей — свободная.

1.4.6. Статьи, описывающие исследования, выполненные на экспериментальных животных или альтернативных биологических

объектах, в разделе «Материалы и методы» должны содержать следующую информацию: организм, орган, ткань, клеточная культура, микробная культура, субклеточный, молекулярный уровень экспериментальных объектов.

В тех работах, где были использованы лабораторные животные, следует указать:

- биологический вид;
- пол;
- возраст;
- массу животного;
- генетический статус: инбредные линии, популяции нелинейных животных, гибриды, генетически модифицированные организмы (трансгенные, нокаутные);
- источник, откуда получены животные;
- микробиологический статус: гнотобиоты, SPF, конвенциональные;
- условия содержания: виварий, изолятор, барьерная система, тип клеток, плотность посадки животных, режим кормления и поения.

1.4.7. Статистическая обработка результатов и таблицы

Таблицы должны содержать только обобщённые и статистически обработанные материалы исследования. Следует указать метод обработки результатов и необходимые для расчётов исходные данные. Информация, представленная в таблицах, не должна повторяться в тексте статьи. Таблицы должны быть пронумерованы и озаглавлены. В тексте в круглых скобках дается ссылка на них, например: (табл. 1).

Порядковые номера и названия таблиц, а также примечания (при наличии) переводятся на английский язык.

1.4.8. Иллюстративный материал

Рисунки не должны дублировать материалы таблиц. Все обозначения на них необходимо сопровождать пояснениями в подписи к рисунку. Иллюстрации следует пронумеровать в порядке их упоминания в тексте. Для микрофотографий полагается указать способ фиксации образцов и увеличение.

Требования к иллюстрациям:

- чёрно-белая графика — разрешение: не менее 600 точек на дюйм, формат: EPS или TIFF;



- полутоновые и цветные изображения — разрешение не менее 300 точек на дюйм, формат EPS или TIFF;

- диаграммы и графики (векторные изображения) представляются в собственном формате программы Adobe Illustrator, FreeHand или CorelDraw или в формате EPS с приложением исходных (табличных) данных, по которым построены графики/диаграммы.

Порядковые номера и названия рисунков, а также примечания (при наличии) переводятся на английский язык.

#### 1.4.9. Сокращения

Помимо общепринятых, допускается использование не более трёх сокращений терминов, с обязательным указанием полного названия (в скобках) при первом упоминании в тексте.

#### 1.4.10. Литература

Цитируемая в статье литература приводится общим списком в конце статьи в алфавитном порядке (вначале — на русском, затем — на иностранных языках). Ссылки на цитируемую литературу в тексте статьи отмечаются порядковым номером работы в списке литературы, заключённым в квадратные скобки. Фамилии иностранных авторов при первом упоминании в тексте указываются (если это необходимо) на языке оригинала.

В списке литературы приводятся:

- для книг: фамилии и инициалы всех авторов, название, место издания, название издательства, год издания, цитируемые страницы, либо общее количество страниц в книге (если текст статьи содержит несколько ссылок на данную книгу).

Пример:

1. Каркищенко В.Н., Каркищенко Н.Н., Шустов Е.Б. *Фармакологические основы терапии*. — Тезаурус. Изд. 3-е — новая ред. — М., СПб: Айсинг, 2018. — 288 с.

References:

1. Karkischenko V.N., Karkischenko N.N., Shustov E.B. *Farmakologicheskie osnovy terapii*. — *Thesaurus. Izd. 3-e — novaya red.* [The pharmacological therapeutics basis. — *Thesaurus. Ed. 3-e — new ed.*]. Moscow, Saint Petersburg: Ajsing Publ., 2018:288. (In Russian).

- для главы (статьи) в книге: фамилии и инициалы авторов главы, название главы, назва-

ние книги, фамилии и инициалы редакторов, место издания, название издательства, год издания, первая и последняя страницы главы.

Пример:

2. Сарвилина И.В., Каркищенко В.Н., Горшкова Ю.В. Современные технологические платформы для геномных и протеомных исследований // В кн.: *Междисциплинарные исследования в медицине*. — М.: Техносфера, 2007. — С. 34–67.

References:

2. Sarvilina I.V., Karkischenko V.N., Gorshkova Yu.V. *Sovremennye tekhnologicheskie platformy dlya genomnyh i proteomnyh issledovaniy* [Modern technological platforms for genomic and proteomic research]. V kn.: *Mezhdisciplinarnye issledovaniya v medicine* [In the book: *Interdisciplinary research in medicine*]. Moscow: Tekhnosfera Publ., 2007:34–67. (In Russian).

- для статьи в журнале: фамилии и инициалы авторов, название статьи, наименование журнала, год, том (выпуск), номер, первая и последняя страницы статьи.

Пример:

3. Каркищенко Н.Н. Концептуальное пространство и топологические структуры биомедицины // *Биомедицина*. — 2005. — № 1. — С. 5–17.

References:

3. Karkischenko N.N. *Konceptual'noe prostranstvo i topologicheskie struktury biomeditsiny* [Conceptual space and topological structures of biomedicine]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2005;1:5–17. (In Russian).

- для сайта: ссылка на страницу в сети Интернет.

Пример: <http://www.nih.gov/science/models/mouse/knockout/index.html>.

#### 1.5. Корректурa

Рукописи, не отвечающие перечисленным правилам, не рассматриваются и не возвращаются. Редакция оставляет за собой право принимать решение о публикации рукописи, производить редакционные изменения и сокращения, стилистическую правку, а также переносить статью в другой раздел журнала. Ответственность за качество и достоверность представленных данных несут авторы. Все рукописи направляются на внешнее рецензирование.

1.6. Плата за публикацию и гонорар авторам

За публикацию статей плата не взимается и гонорар не выплачивается. После опубликования статьи авторам высылается бесплатно один экземпляр журнала.

1.7. Адрес редакции

• Почтовый адрес: 143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, владение 1. НЦБМТ ФМБА России, редакция журнала «Биомедицина»

• Электронные адреса:

ФГБУН НЦБМТ ФМБА России —

[info@scbmt.ru](mailto:info@scbmt.ru); [scbmt@yandex.ru](mailto:scbmt@yandex.ru)

отв. секретарь редакции Алимкина Оксана Владимировна — [alimkina@scbmt.ru](mailto:alimkina@scbmt.ru)

• Подача рукописей возможна через сайт журнала — [journal.scbmt.ru](http://journal.scbmt.ru)

1.8. Сроки опубликования работ

Максимальный срок между датами поступления рукописи в редакцию и опубликования в журнале составляет шесть месяцев. Уведомление авторов в случае отклонения статьи при предварительном рассмотрении по причине явного несоответствия работы тематике журнала происходит в течение месяца после поступления рукописи в редакцию.

## **2. Порядок рецензирования статей, направленных в редакцию рецензируемого издания**

2.1. Все статьи, поступившие в редакцию, проходят независимое рецензирование.

2.2. Рукопись научной статьи, поступившая в редакцию журнала «Биомедицина», рассматривается ответственным секретарём на предмет соответствия профилю журнала, требованиям к оформлению, регистрируется. Отв. секретарь направляет статью на рецензирование одному или, при необходимости, двум рецензентам.

2.3. Для проведения рецензирования рукописей статей в качестве рецензентов могут привлекаться как члены редакционного совета журнала «Биомедицина», так и высококвалифицированные учёные и специалисты других организаций и предприятий, обладающие глубокими профессиональными знаниями и опытом работы по конкретному научному направлению (как правило,

доктора наук, профессора) и имеющие публикации по тематике рецензируемой статьи в течение последних трёх лет.

2.4. Оплата труда рецензентов, не являющихся членами редсовета, производится в соответствии с действующими правилами.

2.5. Рецензенты уведомляются о том, что присланные им рукописи являются частной собственностью авторов и относятся к сведениям, не подлежащим разглашению. Рецензентам не разрешается делать копии статей для своих нужд. Рецензирование проводится конфиденциально (одностороннее «слепое»). Нарушение конфиденциальности возможно только в случае заявления рецензента о недостоверности или фальсификации материалов, изложенных в статье.

2.6. К рецензированию не привлекаются специалисты, работающие в том же учреждении, где выполнена работа.

2.7. Если в рецензии на статью имеется указание на необходимость её исправления, то статья направляется автору на доработку. В этом случае датой поступления в редакцию считается дата возвращения доработанной статьи.

2.8. Статья, направленная автору на доработку, должна быть возвращена в исправленном виде в течение месяца. К переработанной рукописи необходимо приложить письмо от авторов, содержащее ответы на все замечания и поясняющее все изменения, сделанные в статье.

2.9. Если статья по рекомендации рецензента подверглась значительной авторской переработке, она направляется на повторное рецензирование тому же рецензенту, который сделал критические замечания.

2.10. Редакция оставляет за собой право отклонения статей в случае неспособности или нежелания автора учесть пожелания редакции.

2.11. При наличии отрицательных рецензий на рукопись от двух разных рецензентов или одной рецензии на её доработанный вариант статья отвергается без рассмотрения другими членами редсовета.

2.12. В случае несогласия с мнением рецензента автор статьи имеет право предоставить аргументированный ответ в редакцию

журнала. Статья может быть направлена на повторное рецензирование либо на согласование в редакционный совет.

2.13. Решение о целесообразности публикации после рецензирования принимается главным редактором, а при необходимости — редсоветом в целом.

2.14. Ответственный секретарь доводит до сведения автора принятое решение. Максимальный срок рецензирования между датами поступления рукописи в редакцию и вынесения решения составляет два месяца.

2.15. Правила, предъявляемые к рецензиям на научную статью

Задача рецензирования — способствовать строгому отбору авторских рукописей для издания и предлагать конкретные рекомендации по их улучшению. Рецензия должна объективно оценивать научную статью и содержать всесторонний анализ её научных и методических достоинств и недостатков. Рекомендуемый объем рецензий — до 15 тыс. знаков (с пробелами), примерно до 1,5 страниц текста формата А4 кеглем 12.

2.16. Требования к содержанию рецензии на научную статью

Рецензенту необходимо:

- определить соответствие материала, изложенного в статье, профилю журнала;
- оценить актуальность содержания статьи: соответствует ли уровень изложенного в ней материала современным достижениям науки и техники;
- оценить значимость полученных результатов исследований (научных, практических);
- указать, насколько учтены требования к оформлению материала статьи: соответ-

ствие объёма статьи, наличие аннотации на русском и английском языках, наличие списка литературы и ссылок на него в тексте, контактной информации об авторах и др.;

- дать качественную и/или количественную оценку приведённого в статье материала (фактического, иллюстрационного);
- оценить полноту и достоверность приводимых сведений;
- оценить правильность и точность используемых (или вводимых) определений и формулировок;
- дать оценку литературного стиля изложения материала;
- дать обоснованные выводы о статье в целом, замечания, при необходимости — рекомендации по её улучшению.

Комплекс перечисленных вопросов носит общий характер. Каждая конкретная статья требует индивидуального подхода к выбору критериев её оценки.

В заключительной части рецензии по результатам анализа статьи должна быть дана чёткая рекомендация об её публикации в представленном виде, либо о необходимости её доработки или переработки (с конструктивными замечаниями), а может быть, и о нецелесообразности её издания в данном журнале.

2.17. Редакция издания направляет авторам представленных материалов копии рецензий или мотивированный отказ, а также обязуется направлять копии рецензий в Министерство науки и высшего образования РФ при поступлении соответствующего запроса.

2.18. Оригиналы рецензий хранятся в редакции и издательстве в течение пяти лет со дня публикации статей.



VII ТРОИЦКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ  
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ  
**"МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА"**  
(ТКМФ-7)

г. Троицк, г. Москва, 15–18 июня 2020 г.

## **15–18 июня 2020 года в наукограде Троицк (г. Москва) пройдет VII Троицкая конференция «Медицинская физика»**

Институты Троицка исторически активно участвуют в фундаментальных и прикладных исследованиях в области медицинской физики. Поэтому идея регулярного, раз в два года, проведения научных встреч, на которых собираются не только физики, но и специалисты из медицинских учреждений, получила поддержку, а Первая Троицкая научная конференция состоялась в 2004 году.

Организаторами конференции традиционно выступают Институт фотонных технологий ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН (бывший ИПЛИТ РАН), Институт спектроскопии РАН и Администрация г. Троицка, при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований.

В 2020 году тематические секции ТКМФ-7 будут затрагивать широкий круг вопросов из области биомедицинской фотоники, нанотехнологий для медицины, новых биомедицинских методов, приборов и материалов, регенеративных технологий и тканевой инженерии, ядерной и лучевой диагностики и терапии. В рамках конференции будут проведены Симпозиум по ЯМР-томографии, Молодёжная научная школа по медицинской физике, конкурс докладов молодых учёных, а также выставка «Научная и медицинская техника и материалы». К участию в конференции с пленарными и секционными докладами приглашены известные российские и зарубежные ученые из США, Великобритании, Германии, Китая и др.

К участию в конференции приглашаются специалисты в области биомедицины, нанотехнологий, регенеративных технологий и тканевой инженерии, а также практикующие врачи, использующие в своей работе методы и результаты исследований в сфере медицинской физики.

Более подробно ознакомиться с тематикой конференции и условиями участия можно на сайте

[www.medphys.troitsk.ru](http://www.medphys.troitsk.ru)

### **МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ**

**Троицкая детская школа искусств им. М.И. Глинки**

г. Троицк, г. Москва, Октябрьский проспект, д. 12

**Курорт «Красная Пахра»**

г. Москва, поселение Краснопахорское, с. Красное, ул. Парковая, д. 10, стр. 1

### **ОРГАНИЗАТОРЫ КОНФЕРЕНЦИИ**

- Институт фотонных технологий ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН
- Институт спектроскопии РАН (ИСАН)
- Троицкий научный центр РАН
- Администрация г. Троицка
- Троицкий инновационный кластер

### **ТЕМАТИЧЕСКИЕ СЕКЦИИ КОНФЕРЕНЦИИ**

- Биомедицинская фотоника
- Нанотехнологии для медицины
- Новые биомедицинские методы, приборы и материалы
- Регенеративные технологии, тканевая инженерия
- Ядерная и лучевая диагностика и терапия

# Лабораторкорм

*Более десяти лет коллектив нашей организации обеспечивает высококачественным **комбикормом для лабораторных животных** научные медицинские и учебные учреждения России.*

## *Реализуем:*

- ✓ Оборудование для вивариев (клетки-стеллажи и др.);
- ✓ Подстилочный материал из древесной стружки;
- ✓ Зерно: пшеница, овес, ячмень,
- ✓ Премиксы.

**НАШИ КОРМА**  
полнорационные,  
сбалансированные по  
аминокислотному составу,  
минералам и витаминам



**Доставка в любой регион России**

Наш адрес: Москва, 2-й Вязовский проезд, д. 16, стр. 10

ООО «Лабораторкорм»

Телефоны: (495) 972-99-72, 972-16-87, 220-01-23

[www.laboratorkorm.ru](http://www.laboratorkorm.ru)



**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
«Научный центр биомедицинских технологий  
Федерального медико-биологического агентства»  
Филиал «Столбовая»**

Филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (до 2002 года — Питомник лабораторных животных Столбовая РАМН) ведёт свою историю с 1929 года. По настоящее время питомник обеспечивает своих потребителей конвенциональными животными высокого качества, контролируемые по генетическим, экологическим, физиологическим, морфологическим признакам и состоянию здоровья. Все животные сертифицированы в соответствии с Положением о контроле качества лабораторных животных, питомников и экспериментально-биологических клиник (вивариев).

С Филиалом сотрудничает множество потребителей лабораторных животных из России и стран СНГ, в т. ч. научно-исследовательские учреждения ФМБА, РАН, Минздрава и Минобороны России, учебные заведения медико-биологического профиля, производители и испытатели лекарственных средств.

**Филиал «Столбовая» предлагает следующих животных:**

**I. Инбредные мыши линий:**

- **BALB/c** (окраска шерсти: белая, альбиносы; генотип: b, c, d) — используются во всех медико-биологических исследованиях, характеризуются высокой частотой опухолей легких, яичников и надпочечников, лимфосарком, служат моделью для изучения потенциальных фибринолитических компонентов, лизисов и процессов формирования тромбозов, рекомендуются при изучении нарушений репродуктивной функции, обусловленной микоплазмами;
- **CBA/Jac** (окраска шерсти: агути; генотип: k) — используются в радиологии, для изучения спонтанных опухолей печени, могут быть рекомендованы как долгожители, являются хорошей моделью для изучения зависимости течения беременности от возраста;
- **C57BL/6J** (окраска шерсти: чёрная; генотип: a, b) — используются практически во всех медицинских и биологических исследованиях, в т. ч. для изучения скелетных аномалий, дефектов развития головы и глаз, являются стандартной линией для поддержания мутаций, применяются в качестве эталона для сравнения с особенностями других линий в исследовании культур тканей, загрязнения атмосферы, гематологии, химиотерапии рака, радиации, питания;
- **DBA/2J** (окраска шерсти: светло-коричневая; генотип: a, b, d) — особенно широко используются в онкологических, иммунологических, нейробиологических исследованиях.

**II. Межлинейные гибриды мышей:**

- гибриды первого поколения (F1) генетически и фенотипически однородны, обладают большей устойчивостью к условиям внешней среды, чем животные инбредных линий, наследуют генетические особенности родительских линий, но не сохраняют всех их характеристик. Ответ организма на экспериментальное воздействие — однотипный и стабильный, воспроизводимость результатов исследований — высокая. Особенно широко используются в исследованиях онкологии, радиации.

**III. Аутбредные животные** (генетически контролируемые закрытые колонии нелинейных животных):

- **мыши линии ICR** (окраска шерсти: белая) — гетерозиготны по неопределённому числу генов, используются для оценки безопасности лекарственных препаратов, биологически активных добавок, косметических средств;
- **крысы Wistar** (окраска шерсти: белая, альбиносы) — используются в онкологических исследованиях, тератологии, для изучения проблем питания и старения;
- **хомяки сирийские** (окраска шерсти: умеренно желто-коричневая) — используются для наработки вакцин в токсикологии, для изучения поведенческих реакций, канцерогенеза;
- **морские свинки** (окраска шерсти: альбиносы и пестрые).

142350, Московская обл., Чеховский р-н, пос. Столбовая, ул. Мира, д. 1а

Тел.: +7 (495) 996-59-52; +7 (496) 726-95-16

Закупка животных: +7 (964) 768-25-40; +7 (916) 021-02-50

E-mail: [biomaus@mail.ru](mailto:biomaus@mail.ru)

