

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

ISSN 2074-5982 (print)

БИОМЕДИЦИНА

SCIENTIFIC JOURNAL

JOURNAL BIOMED

Том (Vol.) 17

2021

3



Уважаемые коллеги, авторы и читатели журнала «Биомедицина»!



Этот номер посвящён материалам ежегодной межрегиональной научно-практической конференции «Биомедицина и биомоделирование», проведённой Научным центром биомедицинских технологий ФМБА России 26–27 мая 2021 года. Пленарное заседание и симпозиумы были организованы на трёх площадках: в НЦБМТ ФМБА России (Московская область), на базе

СПХФУ Минздрава России (Санкт-Петербург) и РостГМУ Минздрава России (Ростов-на-Дону). Мы благодарны всем, кто принял участие в работе конференции. Видеопрезентации докладов размещены на официальном сайте НЦБМТ ФМБА России по адресу <http://scbmt.ru/index.php/news/konferentsiya-2021>.

В номер вошли практически все работы, представленные на конференцию. Ввиду их большого количества мы впервые выпускаем третий номер журнала в двух форматах: этот — в печатном виде, второй — только в электронном. На электронную версию получено свидетельство о регистрации в Национальном центре и присвоении Международного стандартного номера сериального издания ISSN 2713–0428, всем работам также присваивается префикс doi, выпуск будет размещён в РИНЦ и иметь одинаковый статус с печатной версией. С полными электронными формами обоих выпусков, содержащих статьи в оригинальном авторском виде, можно ознакомиться на официальном сайте журнала «Биомедицина» <http://journal.scbmt.ru> и на сайте НЦБМТ ФМБА России <http://scbmt.ru>.

*С уважением,
директор ФГБУН НЦБМТ ФМБА России
доктор медицинских наук, профессор В.Н. Каркищенко*

A handwritten signature in blue ink, consisting of stylized, cursive letters, likely representing the name V.N. Karakitsenko.

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»

БИОМЕДИЦИНА

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2005 г.
4 выпуска в год

2021, Том 17, № 3

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

JOURNAL BIOMED

SCIENTIFIC JOURNAL

Published since 2005.
Quarterly.

2021, Vol. 17, No. 3

БИОМЕДИЦИНА

Biomeditsina

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

■ Главный редактор

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

■ Заместители главного редактора

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

Помыткин Игорь Анатольевич, к.х.н.

■ Ответственный секретарь

Алимкина Оксана Владимировна

■ Члены редакционного совета

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

БИОМЕДИЦИНА

Biomeditsina

История издания журнала:	Журнал издается с 2005 г.
Периодичность:	4 выпуска в год
Префикс DOI:	10.33647
ISSN	2074-5982 (Print) 2713-0428 (Online)
Свидетельство о регистрации СМИ:	Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати. Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС77-21324 от 09.06.2005
Индексация:	Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук
Подписной индекс:	57995 в объединенном каталоге «Пресса России»
Стоимость одного выпуска:	400 руб.
Условия распространения материалов:	Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License
Учредитель:	ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» 143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, влд. 1
Издатель:	ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» 143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, влд. 1
Редакция:	143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, влд. 1 Тел.: +7 (495) 561-52-64 E-mail: info@scbmt.ru , scbmt@yandex.ru
Тираж:	3000 экземпляров
Типография:	ООО «БЕАН» 603003, Нижегородская обл., Нижний Новгород, ул. Баррикад, д. 1
Дата выхода в свет:	10.09.2021

JOURNAL BIOMED

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

■ Editor-in-Chief

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

■ Deputy Editors-in-Chief

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

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

■ Executive Secretary

Oksana V. Alimkina

■ Members of Editorial Council

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

JOURNAL BIOMED

Founded:	The journal has been published since 2005.
Frequency:	Quarterly
DOI Prefix:	10.33647
ISSN	2074-5982 (Print) 2713-0428 (Online)
Mass media registration certificate:	Registered at the State Committee of the Russian Federation on Press under the number ПИ № ФС77-21324 of 09.06.2005
Indexing:	The Journal is included into the Higher Attestation Commission (HAC) list of periodicals (the list of leading per-reviewed scientific journals recommended for publishing the basic research results of doctor and candidate theses)
Subscription index:	57995 in the combined catalogue "Pressa Rossii"
Price:	400 RUR
Content distribution terms:	Content is distributed under Creative Commons Attribution 4.0 License
Founders:	Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia 143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1
Publisher:	Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia 143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1
Editorial office:	143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1 Tel.: +7 (495) 561-52-64 E-mail: info@scbmt.ru , scbmt@yandex.ru
Circulation:	3000 copies
Printing house:	BEAN, LLC. 603003, Russian Federation, Nizhny Novgorod Region, Nizhny Novgorod, Barrikad Street, 1
Publication date:	10.09.2021

■ БИМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В СПОРТЕ

В.Н. Каркищенко, Н.В. Петрова, В.В. Слободенюк, Н.А. Ларюшина

Применение молекулярно-биологических методов оценки экспрессии цитокинов и сиртуинов в биомоделировании предельных физических нагрузок спортсменов 10

■ МЕТОДЫ И ТЕХНОЛОГИИ БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

О.В. Алимкина, А.Э. Петренко, Е.С. Савченко, Н.С. Огнева, Л.А. Таболякова, С.В. Максименко, М.М. Скрипкина, М.М. Борисова

Анализ клеточного состава бронхоальвеолярного лаважа при моделировании и лечении острого респираторного дистресс-синдрома на мышах-биомоделях 17

Е.Г. Батоцыренова, В.А. Кашуро, А.В. Шарabanов

Фармакологическая коррекция отдаленных последствий острого тяжелого отравления тиопенталом натрия в условиях хронического светового десинхроноза 23

М.М. Борисова, М.А. Чечушков, М.С. Нестеров

Зоотехнический анализ функциональных параметров вольерного содержания кабарги с целью повышения качественного состава мускуса 29

Л.С. Головкин, А.В. Сафроненко, Ю.С. Макляков, Е.В. Ганцгорн, Н.В. Сухорукова, А.В. Каплиев

Влияние исходных параметров коагулограммы и временного интервала между гемостатиками и антикоагулянтами на риск развития тромбгеморрагических осложнений после эндопротезирования крупных суставов 34

С.П. Драган, С.М. Разинкин, Г.Г. Ерофеев

Технология повышения функциональных резервов организма на основе биоакустической стимуляции дыхательной системы 39

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

Клеточная терапия патологических повреждений ЖКТ у биомодели с НПВС-индуцированным энтероколитом 48

Т.С. Литвиненко, А.В. Сафроненко, Е.В. Ганцгорн, О.М. Куделина, Е.С. Постникова, В.А. Чотий

Нежелательные лекарственные реакции и методические подходы к их мониторингу 56

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

Стандартизация критических показателей качества липосом экстракта препуциальной железы мускуса кабарги сибирской 62

А.А. Николаев, Н.Н. Каркищенко, Ю.А. Чудина, Д.Б. Чайванов, А.А. Варганов Электрооптический метод дифференциальной диагностики патологий кровообращения головного мозга	68
Ю.В. Фокин, М.М. Борисова, С.Ю. Харитонов Нейровизуализация интрацентральных отношений головного мозга кошек посредством нормализации электрограмм при действии семакса	74
■ РЕЛЕВАНТНОЕ И АЛЬТЕРНАТИВНОЕ БИОМОДЕЛИРОВАНИЕ	
И.В. Косарев, Р.Н. Василенко, В.М. Абрамов, В.К. Сакулин, В.С. Хлебников, С.Ю. Пчелинцев, А.В. Мачулин, Т.Н. Абашина, В.А. Самойленко, В.Н. Уверский, А.В. Карлышев S-белок пробиотического штамма <i>Lactobacillus crispatus</i> 2029 предотвращает рост проницаемости монослоя Сасо-2 энтероцитов человека, индуцируемый возбудителями кишечных инфекций	79
В.А. Пугач, М.А. Тюнин, Н.С. Ильинский, Е.В. Левчук, Е.И. Строкина, А.А. Ельцов Экспериментальная модель прямого острого повреждения легких у крыс, вызванного интратрахеальным введением липополисахарида <i>Salmonella enterica</i>	84
С.В. Чепур, В.А. Мясников, М.А. Тюнин, Н.С. Ильинский, А.С. Никишин, А.А. Исаева, В.А. Шевченко Модель новой коронавирусной инфекции у золотистых сирийских хомячков: основные патологические изменения	90
■ ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОМЕДИЦИНЕ	
М.А. Белых Влияние 4,4'-(пропандиамидо)добензоата натрия на проявления экспериментального неалкогольного стеатогепатита.	95
В.Ц. Болотова, И.А. Титович, Е.Б. Шустов Изучение нейропротекторной активности нового производного фумаровой кислоты . . .	100
А.Ю. Савченко, Г.В. Раменская, В.Г. Кукес, М.С. Буренков, Б.В. Шилов Комплексная оценка безопасности нового противотуберкулезного препарата из группы диарилхинолинов.	105
■ БИОМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ	
Е.К. Мелоян, А.В. Сафроненко, Е.В. Ганцгорн, Л.Е. Хмара, А.О. Голубева, М.А. Джабр 1,3-диэтилбензимидазолия трийодид в фармакотерапии хронического компенсированного тонзиллофарингита	111

■ BIOMEDICAL TECHNOLOGIES IN SPORTS

Vladislav N. Karkischenko, Nayaliya V. Petrova, Vladimir V. Slobodenyuk, Nadezhda A. Laryushina
 Application of Biomolecular Methods for Estimating Cytokine and Sirtuin Expression in Biosimulation of Ultimate Physical Load of Athletes 10

■ METHODS AND TECHNOLOGIES OF BIOMEDICAL RESEARCH

Oksana V. Alimkina, Aleksandra E. Petrenko, Elena S. Savchenko, Nastasya S. Ogneva, Lidiya A. Taboyakova, Sergey V. Maksimenko, Mariya M. Skripkina, Mariya M. Borisova
 Analysis of the Cellular Composition of Bronchoalveolar Lavage in the Modeling and Treatment of Acute Respiratory Distress Syndrome in Biomodel Mice 17

Ekaterina G. Batotsyrenova, Vadim A. Kashuro, Andrey V. Sharabanov
 Pharmacological Correction of Long-Term Effects of Acute Severe Poisoning with Sodium Thiopental under Long Time Light Desynchronization 23

Mariya M. Borisova, Mikhail A. Chechushkov, Maksim S. Nesterov
 A Zootechnical Analysis of the Functional Parameters of Grazing Kabarga Deer with the Purpose of Increasing the Musk Quality 29

Liliya S. Golovko, Andrey V. Safronenko, Yuri S. Maklyakov, Elena V. Gantsgorn, Natalya V. Sukhorukova, Andrey V. Kapliev
 Impact of the Initial Coagulation Parameters and the Time Interval between Hemostatics and Anti coagulants on the Risk of Thrombohemorrhagic Complications After Endoprosthetics of Large Joints 34

Sergey P. Dragan, Sergey M. Razinkin, Gennadiy G. Erofeev
 A Technology for Increasing the Functional Reserves of the Body Based on Bioacoustic Stimulation of the Respiratory System 39

Roman A. Klesov, Olga I. Stepanova, Vladislav N. Karkischenko, Oksana V. Baranova
 Cell Therapy of Pathological Gastrointestinal Lesions in Modeled NSAID-Induced Enterocolitis 48

Tatyana S. Litvinenko, Andrey V. Safronenko, Elena V. Gantsgorn, Oksana M. Kudelina, Elena S. Postnikova, Valeria A. Chotiy
 Adverse Drug Reactions and Methodological Approaches to Their Monitoring 56

Maxim S. Nesterov, Ruslan A. Ageldinov, Daniil V. Khvostov, Victor S. Kokhan, Anna I. Levashova, Stanislav L. Lyublinskiy, Vladislav N. Karkischenko
 Standardization of Critical Quality Indicators of Liposomes of Siberian Musk Deer Prepuccial Gland Extract 62

Andrei A. Nikolaev, Nikolay N. Karkischenko, Yulia A. Chudina, Dmitriy B. Chaivanov, Alexandr A. Vartanov
 Electro-Optical Method for Differential Diagnosis of Pathologies of Blood Supply to the Brain 68

Yuriy V. Fokin, Mariya M. Borisova, Sergey Yu. Kharitonov Neuroimaging of the Intracranial Brain of Cats by Normalization of Electrograms under the Action of Semax.	74
■ RELEVANT AND ALTERNATIVE BIOMODELLING	
Igor V. Kosarev, Raisa N. Vasilenko, Vyacheslav M. Abramov, Vadim K. Sakulin, Valentin S. Khlebnikov, Sergey Yu. Pchelintsev, Andrey V. Machulin, Tatiana N. Abashina, Vladimir A. Samoilenko, Vladimir N. Uversky, Andrey V. Karlyshev S-Protein of the Probiotic Strain <i>Lactobacillus crispatus</i> 2029 Prevents the Growth of Permeability of the Caco-2 Monolayer of Human Enterocytes Induced by Intestinal Infections	79
Victoria A. Pugach, Mikhail A. Tyunin, Nikita S. Ilinskiy, Elena V. Levchuk, Elena I. Strokina, Anatoly A. Eltsov An Experimental Model of Direct Acute Lung Injury in Rats Caused by Intratracheal Administration of Lipopolysaccharide from <i>Salmonella enterica</i>	84
Sergey V. Chepur, Vadim A. Myasnikov, Mikhail A. Tyunin, Nikita S. Ilinskiy, Alexandr S. Nikishin, Anastasia A. Isaeva, Valentin A. Shevchenko A Model of a Novel Coronavirus Infection in Golden Syrian Hamsters: Major Pathological Changes	90
■ PRECLINICAL RESEARCH IN BIOMEDICINE	
Maria A. Belykh Impact Of 4,4'-(Propanediamide)Dibenzoate Sodium on Manifestations of Experimental Non- Alcoholic Steatohepatitis	95
Vera Ts. Bolotova, Irina A. Titovich, Evgeniy B. Shustov Study of the Neuroprotective Activity of a New Fumaric Acid Derivative.	100
Alla Yu. Savchenko, Galina V. Ramenskaya, Vladimir G. Kukes, Mikhail S. Burenkov, Boris V. Shilov Comprehensive Assessment of the Safety of a New Antituberculosis Drug from the Diarylquinolines Group	105
■ BIOMEDICAL TECHNOLOGIES IN CLINICAL STUDIES	
Elena K. Meloyan, Andrey V. Safronko, Elena V. Gantsgorn, Lyubov E. Hmara, Anna O. Golubeva, Mohamad A. Jabr 1,3-Diethylbenzimidazolium Triiodide in Pharmacotherapy of Chronic Compensated Tonsillopharyngitis	111

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-10-16>

ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ЭКСПРЕССИИ ЦИТОКИНОВ И СИРТУИНОВ В БИОМОДЕЛИРОВАНИИ ПРЕДЕЛЬНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК СПОРТСМЕНОВ

В.Н. Каркищенко, Н.В. Петрова*, В.В. Слободенюк, Н.А. Ларюшина

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

Мини-пиги являются адекватной биомоделью для характеристики процессов работоспособности и выносливости, а также для проведения исследований в области спортивной медицины. Для проведения такого рода исследований нами предложены гены-мишени из семейств белков цитокинов и сиртуинов: *IL-6*, *HMGBl*, *TNF* (гены, отвечающие за синтез белков, относящихся к группе цитокинов) и *SIRT* (трансфераза из семейства белков-сиртуинов). Особый интерес для данного исследования представляет ген *SIRT1* как активатор митохондриальной активности при физической нагрузке. Созданы системы ПЦР в реальном времени, благодаря которым станет возможным проводить оценку влияния различных препаратов при доклинических исследованиях на лабораторных мини-пигах.

Ключевые слова: работоспособность, выносливость, мини-пиги, ПЦР-системы, цитокины, *SIRT*

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Каркищенко В.Н., Петрова Н.В., Слободенюк В.В., Ларюшина Н.А. Применение молекулярно-биологических методов оценки экспрессии цитокинов и сиртуинов в биомоделировании предельных физических нагрузок спортсменов. *Биомедицина*. 2021;17(3):10–16. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-10-16>

Поступила 25.04.2021

Принята после доработки 24.07.2021

Опубликована 10.09.2021

APPLICATION OF BIOMOLECULAR METHODS FOR ESTIMATING CYTOKINE AND SIRTUIN EXPRESSION IN BIOSIMULATION OF ULTIMATE PHYSICAL LOAD OF ATHLETES

Vladislav N. Karkischenko, Nataliya V. Petrova*, Vladimir V. Slobodenyuk,
Nadezhda A. Laryushina

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

Mini-pigs are an adequate biomodel for characterizing the processes of working capacity and endurance, as well as for conducting investigations in the field of sports medicine. For this kind of research, we propose gene targets from the families of cytokine and sirtuin proteins: *IL-6*, *HMGBl*, *TNF* (genes responsible for the synthesis of proteins belonging to the cytokine group) and *SIRT* (transferase from the family of sirtuin proteins). The *SIRT1* gene presents particular interest as an activator of mitochondrial activity during exercise. Real-time PCR systems were created, allowing assessment of the effect of various drugs on laboratory mini-pigs in preclinical studies.

Keywords: performance, endurance, mini-pigs, PCR systems, cytokines, *SIRT*

Conflict of interest: The authors declare no conflicts of interest.

For citation: Karkischenko V.N., Petrova N.V., Slobodenyuk V.V., Laryushina N.A. Application of Biomolecular Methods for Estimating Cytokine and Sirtuin Expression in Biosimulation of Ultimate Physical Load of Athletes. *Journal Biomed.* 2021;17(3):10–16. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-10-16>

Submitted 25.04.2021

Revised 24.07.2021

Published 10.09.2021

Введение

Для проведения исследований по влиянию различных препаратов на работоспособность лабораторных животных требуются обученные особи, на которых возможно моделировать тренировочный процесс, для чего в лаборатории спортивной биомедицины НЦБМТ ФМБА России успешно используются мини-свиньи светлогорской популяции. При проведении исследований для оценки работоспособности и выносливости животные получают физическую нагрузку во время бега на тредбане [1, 3].

Ранее нами было проведено молекулярно-генетическое исследование, результаты которого свидетельствуют, что ген *NFE2L2*, кодирующий фактор транскрипции *Nrf2*, активно экспрессируется в ответ на оксидативный стресс в клетках организма животных. Нами показано, что ген *NFE2L2* может служить оценочным критерием при проведении исследований работоспособности и выносливости для индивидуального отбора по группам. На данный момент он рекомендован для проведения оценки влияния фармакологических препаратов на восстановительные свойства организма, при возможном выборе фармнутриентов и экстраполяции исследований на человека [1].

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. [1]. Для углубленного изучения и понимания этих процессов нами поставлена цель — поиск новых генов-мишеней и создание ПЦР-систем в реальном времени.

Был выделен ряд генов-мишеней, в различной степени влияющих на выносливость данной конкретной особи. Мишенями для молекулярных исследований являлись уровни экспрессии следующих генов: *IL-6*, *HMGB1*, *TNF* (гены, отвечающие за синтез белков, относящихся к группе цитокинов) и *SIRT* (трансфераза из семейства белков-сиртуинов) [2, 4–7].

Ген *IL-6* является провоспалительным цитокином, принимающим участие в воспалительной реакции, также является сильным эндогенным пирогеном (способен вызывать лихорадку при инфекционных и аутоимунных поражениях), а также участвует в созревании ряда иммунокомпетентных тканей, в т. ч. В-клеток. Нарушение регуляции в синтезе данного белка ассоциируется с такими заболеваниями, как миксома сердца, неалкогольная жировая болезнь печени, ревматоидный артрит, а также в клеточном массиве миеломы [7].

Ген *TNF* кодирует полифункциональный цитокин. Данный белок продуцируется

в основном клетками макрофагами, способен вызывать гибель линий опухолевых клеток. Ассоциируется с такими болезнями, как неалкогольная жировая болезнь печени, различные формы рака [7].

Ген *HMGB1* кодирует цитокин, принадлежащий суперсемейству High mobility Group-box. Участвует в организации и регуляции транскрипции ДНК. Обычно содержится в нуклеоплазме. Вне клетки он является индуктором ряда провоспалительных цитокинов. Его связывают с подавлением эпигенетических генов и рекомбинации рДНК, а также процессом старения и некоторыми возрастными патологиями [2, 7].

Наиболее полно отвечает нашим целям семейство белков-сиртуинов. *SIRT* — клеточные белки, которые, в т. ч., связаны с увеличением продолжительности жизни. Это семейство включает семь белков, кодируемых генами *SIRT1-7* [6, 7]. Сиртуины играют важную роль в ответе на стресс, регуляции циркадных ритмов, эпигенетической регуляции и имеют решающее значение для клеточного метаболизма (митохондриальный биогенез). Исследования показывают, что повышенная активность сиртуинов способствует продолжительности жизни у разных животных. Из семи других сиртуинов семейства *SIRT1* является наиболее изученным. При этом активация *SIRT1* приводит к положительным изменениям в организме: уменьшение ДНК повреждений, уменьшение окислительного стресса, снижение уровня воспаления. Активация *SIRT1* может приводить к улучшению клинической картины при диабете, сердечно-сосудистых заболеваниях, артрите, нейродегенеративных заболеваниях и некоторых видах рака и может замедлять старение [4–7].

Т. о., данный ген является индуктором митохондриальной активности, в т. ч. внутримышечного волокна, и способствует повышению выносливости. В соответствии с этим ген *SIRT1* является подходящим критерием для оценки физической активности

и восстановительного периода после нагрузки как у лабораторных животных, так и у человека.

Цель работы — создание и оптимизация ПЦР-систем в реальном времени для мониторинга уровня экспрессии интересующих нас генов-мишеней *IL-6*, *TNF*, *HMGB1*, *Sirt* для мини-пигов.

Задачи работы:

1. Оценка мини-пигов как предполагаемых подопытных животных в ряде экспериментов по оценке изменений уровней цитокинов и сиртуинов при повышенных нагрузках и в ответ на развитие оксидативного стресса.

2. Биоинформационный анализ литературных источников (с помощью базы NCBA) с целью поиска специфичных и наиболее перспективных нуклеотидных последовательностей мишеней для создания рабочих праймеров и флюоресцентного зонда к генам *IL-6*, *TNF*, *HMGB1*, *Sirt* мини-пигов.

3. Оптимизация синтезированных праймеров с использованием в качестве биоматериала выделенной из цельной крови мини-пигов лейкоцитарной фракции.

Материалы и методы

Объект исследования

Для мини-пигов доступны различные оценочные методики, в т. ч. биохимические и физические показатели. При этом животные не достигают больших размеров (их вес колеблется в пределах 10–80 кг, в то время как полноразмерные животные весят 450–500 кг), однако сохраняют плодовитость (до 12-ти поросят за один опорос) своих сельскохозяйственных собратьев.

Сходство биохимических анатомо-физиологических процессов у мини-пигов и человека достаточно велико для проведения биохимических и гематологических исследований. При этом полученные данные будут иметь высокую прогностическую ценность.

Материалом для исследования служила цельная кровь мини-пиггов. В нашем исследовании забор крови осуществлялся у мини-свиней светлогорской популяции, как ранее применявшихся в подобного рода исследованиях. Забор материала осуществляли при помощи вакуумных пробирок BD Vacutainer Plus с крышкой BD Hemogard с К2ЭДТА на 10 мл.

Критерии создания праймеров для ПЦР-системы в реальном времени

Для решения данной задачи мы использовали следующие критерии подбора олигонуклеотидных последовательностей:

- процентная доля комплиментарных оснований G-C может составлять от 20 до 80% всей последовательности (актуально и для праймеров и для зонда);
- температура отжига работающих в паре праймеров не должна различаться более чем на 2°C, при этом температура отжига зонда должна быть на 5–10°C выше температуры отжига праймеров;
- четыре 3'-концевых нуклеотида не должны быть комплиментарны самому парному праймеру и зонду;
- у зонда на 5' конце не должно быть G основания;
- длина олигонуклеотидной последовательности праймера составляет 20–30 нуклеотидов;
- длина ПЦР-продукта составляет 50–200 нуклеотидов;
- расстояние между флюорофором и гасителем не должно быть меньше 5–6 нуклеотидов;
- спектр поглощения гасителя должен перекрываться со спектром излучения флюорофора.

Зачастую при подборе праймеров можно использовать автоматические программы, позволяющие находить подходящие регионы, однако в большинстве случаев оптимальные пары требуют подбора вручную.

Исследования методом ПЦР в режиме реального времени

Оптимизация праймеров для генов *IL-6*, *TNF*, *HMGB1*, *Sirt* мини-пиггов проводили методом ПЦР в режиме реального времени. Амплификацию проводили на детектирующем амплификаторе CFX-96 («Bio-Rad», США) с использованием специфических праймеров и зонда (табл. 1).

Из исследуемого материала выделяли лейкоцитарную фракцию при помощи реагента «Фиколл-урографин» в соответствии с инструкцией фирмы-производителя («ДНК-Технология», Россия). Далее из очищенного материала выделялась смесь РНК-ДНК с помощью набора для выделения «Рибо-сорб», согласно коммерческой инструкции («AmpliSens», Россия). Синтез первой цепи кДНК проводили согласно инструкции «Комплект реагентов для получения кДНК на матрице РНК «РЕВЕРТА-Л» («ИнтерЛабСервис», Россия). Количество исследуемых кДНК в образцах рассчитывали путем определения пороговых циклов ПЦР.

Оптимизацию праймеров для генов *IL-6*, *TNF*, *HMGB1*, *Sirt* мини-пиггов проводили методом ПЦР в режиме реального времени. Амплификацию проводили на детектирующем амплификаторе CFX-96 («Bio-Rad», США) с использованием специфических праймеров и зонда (табл. 1). Стадию амплификации кДНК *IL-6*, *TNF*, *HMGB1*, *Sirt*, на детектирующем амплификаторе CFX-96 («Bio-Rad», США) в режиме реального времени проводили в 25 мкл смеси состава: ПЦР-буфер ($\times 10$): 700 мМТрис-НСl, рН 8,6 / 25°C, 166 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 25 мМ MgCl_2 , 0,2 мМ dNTPs, *Taq*-полимераза. Амплификация проводилась по протоколу с градиентом: на стадии отжига температура в каждой лунке изменялась в диапазоне от 65°C до 55°C в ячейках (в вертикальных столбиках) с А по Н, оставаясь стабильной в горизонтальных рядах.

Таблица 1. Олигонуклеотидные праймеры и зонд ПЦР-системы
Table 1. Oligonucleotide primers and PCR probe

Исследуемая мишень	Олигонуклеотидные праймеры и зонд
<i>IL-6sus F</i>	5'-TCCAGACAAAGCCACCACCC-3'
<i>IL-6sus R</i>	5'-CGTGGACGGCATCAATCTCA-3'
<i>IL-6sus ROX</i>	GTCACAGAACGAGTGGATGAAGAAC-BHQ2
<i>TNFsus F</i>	5'-TCTCCTTCTCCTGGTCGCA-3'
<i>TNFsus R</i>	5'-CGACGGGCTTATCTGAGGTT-3'
<i>TNFsus ROX</i>	ACGCTCTTCTGCCTACTGCACTTCG-BHQ2
<i>HMGB1sus F</i>	5'-TGAAGAGGATGAGGAGGAGG-3'
<i>HMGB1sus R</i>	5'-CCACCAGGACAGGGCTATCT-3'
<i>HMGB1sus ROX</i>	AGGATGAGGAGGAAGAAGAAGATGA-BHQ2
<i>Sirt sus F</i>	5'-TGGTTTGGGAAGATGATGCTG-3'
<i>Sirt sus R</i>	5'-CCCTAATGCTGGTGGACAA-3'
<i>Sirt sus ROX</i>	GAAGTGACCAAGAGGCAGTTAATGA-BHQ2

Результаты и их обсуждение

Подбор оптимальных условий проведения амплификации представлен в табл. 2.

Исходя из времени «подъёма» детектируемой амплификации каждой из проб и выхода кривой на плато, представленных на рисунке, были определены оптимальные температуры отжига каждого из праймеров. Чем меньше цикл «подъёма», тем больше активность праймера в аналогичной пробе и, соответственно, более близкая к оптимальной температура.

Заключение

Светлогорские мини-свиньи проявляют себя как легко обучаемые животные и являются оптимальной моделью для проведения экспериментов, связанных с физическими нагрузками.

В результате биоинформационного анализа литературных данных были созданы специфические ПЦР-системы с флюоресцент-

ными зондами «в реальном времени» к генам *IL-6*, *TNF*, *HMGB1*, *SIRT*. Экспериментально подобраны оптимальные температуры отжига и концентрации ПЦР-смеси для каждого гена.

Показано, что выбранные гены-мишени могут быть применимы в качестве оценочного критерия молекулярно-генетических механизмов оксидативного стресса в клетках, а также могут являться специфичными показателями при проведении исследований работоспособности и выносливости для индивидуального отбора по группам. Рекомендованные ПЦР-системы готовы для проведения исследований влияния фармакологических препаратов на восстановительные свойства организма, при возможном выборе фармнутриентов и экстраполяции исследований на человека. Также выбранные гены-мишени могут быть использованы при моделировании ревматоидного артрита, сопровождающегося хро-

Таблица 2. Режимы проведения амплификации в реальном времени
Table 2. Conditions of real-time PCR

Режимы	Температура	Продолжительность	Количество циклов
Начальная денатурация	95°C	5 мин	1
Денатурация	95°C	20 с	45
Отжиг	55–65°C	40 с	
Элонгация	72°C	30 с	

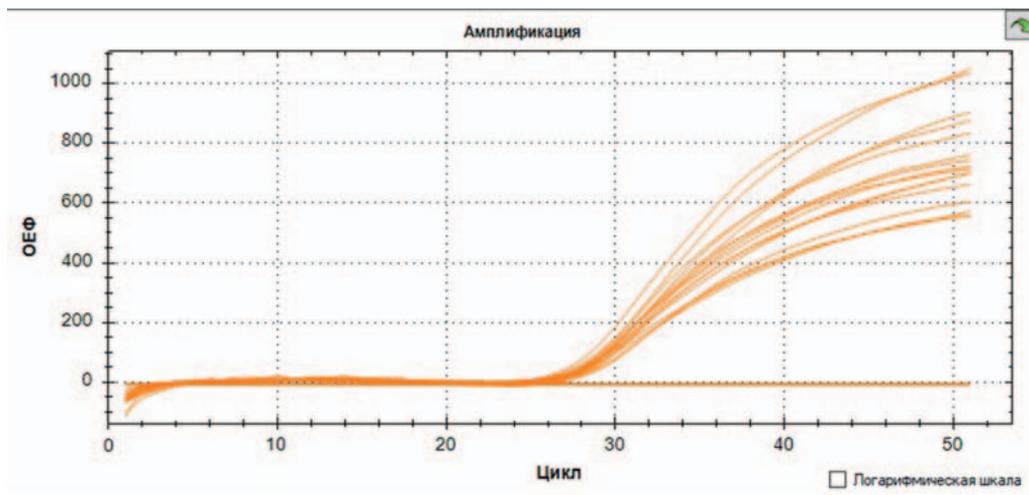


Рис. Логарифмическая кривая амплификации. По оси абсцисс откладываются относительные единицы флуоресценции, по оси ординат — циклы амплификации.

Fig. Logarithmic curve of amplification. Axis X presents relative fluorescent units and Axis Y presents number of amplification cycles.

ническим воспалительным аутоимунным процессом, что позволит отслеживать ин-

тенсивность протекания заболевания и эффективность проводимой терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. 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-пиггов. *Биомедицина*. 2020;16(1):42–52. [Karischenko V.N., Petrova N.V., Stankona N.V., Slobodenyuk V.V., Alimkina O.V., Kulakova M.I., Vasilyeva I.A. Issledovanie i ocenka molekulyarno-geneticheskikh priznakov ekspresii gena *NFE2L2* pri adaptacii k fizicheskim nagruzkam u mini-pigov [Study and evaluation of molecular genetic signs of the *NFE2L2* gene expression during adaptation to physical loads in mini pigs]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2020;16(1):42–52. (In Russian)]. DOI:10.33647/2074-5982-16-1-42-55.
2. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Салль Т.С. Алармин1 (HMGB1) и возрастная патология. Эпигенетические механизмы регуляции. *Успехи физиологических наук*. 2017;48(4):40–55. [Kuznik B.I., Khavinson V.Kh., Linkova N.S., Sall T.S. Alarmin1 (HMGB1) i vozrastnaya patologiya. Epigeneticheskie mekhanizmy regulyacii [Alarmin1 (HMGB1) and Age-Related Pathologies. Epigenetic Regulatory Mechanisms]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk [Advances in Physiological Sciences]*. 2017;48(4):40–55. (In Russian)].
3. Рыбакова А.В., Ковалева М.А., Калатанова А.В., Ванатиев Г.В., Макарова М.Н. Карликовые свиньи как объект доклинических исследований. *Международный вестник ветеринарии*. 2016;3:168–176. [Rybakova A.V., Kovaleva M.A., Kalatanova A.V., Vanatiev G.V., Makarova M.N. Karlikovye svin'i kak obyekt doklinicheskikh issledovaniy [Mini pigs as the object of pre-clinical studies]. *Mezhdunarodny Vestnik Veterinarii [International bulletin of Veterinary Medicine]*. 2016;3:168–176. (In Russian)].
4. Iside C., Scafuro M., Nebbioso A., Altucci L. SIRT1 Activation by natural phytochemicals: an overview. *frontiers in pharmacology*. 2020;11:1225. DOI:10.3389/fphar.2020.01225.
5. Pardo P.S., Boriek A.M. SIRT1 Regulation in ageing and obesity. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2020;188:111249. DOI:10.1016/j.mad.2020.111249.
6. Jeong H.W., Cho S.Y., Kim S., Shin E.S., Kim J.M., Song M.J., Park P.J., Sohn J.H., Park H., Seo D.-B., Kim W.G., Lee S.-J. Chitoooligosaccharide induces mitochondrial biogenesis and increases exercise endurance through the activation of sirt1 and AMPK in rats. *PLoS One*. 2012;7:e40073. DOI:10.1371/journal.pone.0040073.
7. <https://www.proteinatlas.org/>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Каркищенко Владислав Николаевич, д.м.н., проф., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: scbmt@yandex.ru

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

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

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

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

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

Ларюшина Надежда Андреевна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: kichi09@mail.ru

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

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

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



АНАЛИЗ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО ЛАВАЖА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ И ЛЕЧЕНИИ ОСТРОГО РЕСПИРАТОРНОГО ДИСТРЕСС-СИНДРОМА НА МЫШАХ-БИОМОДЕЛЯХ

О.В. Алимкина*, А.Э. Петренко, Е.С. Савченко, Н.С. Огнева, Л.А. Табоjackова,
С.В. Максименко, М.М. Скрипкина, М.М. Борисова

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

Статья посвящена изучению изменений в клеточном составе бронхоальвеолярного лаважа во времени при моделировании острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) у мышей с последующим однократным введением Лейтрагина. У интактных животных в бронхоальвеолярном лаваже преобладают макрофаги, что является физиологической нормой. При моделировании ОРДС происходит нарастание нейтрофилов. Однократное введение Лейтрагина достоверно уменьшает количество нейтрофилов с одновременным нарастанием макрофагов к 72-м ч, т. е. приводя клеточный состав лаважа к норме.

Ключевые слова: острый респираторный дистресс-синдром, бронхоальвеолярный лаваж, Лейтрагин
Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Алимкина О.В., Петренко А.Э., Савченко Е.С., Огнева Н.С., Табоjackова Л.А., Максименко С.В., Скрипкина М.М., Борисова М.М. Анализ клеточного состава бронхоальвеолярного лаважа при моделировании и лечении острого респираторного дистресс-синдрома на мышцах-биомоделях. *Биомедицина*. 2021;17(3):17–22. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-17-22>

Поступила 01.04.2021

Принята после доработки 16.04.2021

Опубликована 10.09.2021

ANALYSIS OF THE CELLULAR COMPOSITION OF BRONCHOALVEOLAR LAVAGE IN THE MODELING AND TREATMENT OF ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME IN BIOMODEL MICE

Oksana V. Alimkina*, Aleksandra E. Petrenko, Elena S. Savchenko, Nastasya S. Ogneva,
Lidiya A. Taboyakova, Sergey V. Maksimenko, Mariya M. Skripkina, Mariya M. Borisova

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 investigates changes in the cellular composition of bronchoalveolar lavage over time in the modeling of acute respiratory distress syndrome (ARDS) in mice, followed by a single administration of Leutragine. In intact animals, macrophages predominate in bronchoalveolar lavage, which is the physiological norm. When modeling ARDS, neutrophils increase. A single administration of Leutragine leads to a significant reduction in the number of neutrophils and a simultaneous increase in macrophages in 72 hours, thus bringing the cellular composition of lavage to normal.

Key words: acute respiratory distress syndrome, bronchoalveolar lavage, Leutragine

Conflict of interest: authors declare no conflicts of interest.

For citation: Alimkina O.V., Petrenko A.E., Savchenko E.S., Ogneva N.S., Taboyakova L.A., Maksimenko S.V., Skripkina M.M., Borisova M.M. Analysis of the Cellular Composition of Bronchoalveolar Lavage in the Modeling and Treatment of Acute Respiratory Distress Syndrome in Biomedel Mice. *Journal Biomed.* 2021;17(3):17–22. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-17-22>

Submitted 01.04.2021

Revised 16.04.2021

Published 10.09.2021

Введение

Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) — тип дыхательной недостаточности, характеризующийся быстрым началом широкого воспалительного процесса в легких [8]. ОРДС чаще возникает в первые 12–48 ч от начала основного заболевания [5] и характеризуется избыточной продукцией провоспалительных цитокинов и хемокинов, массивной инфильтрацией нейтрофилов в легкие, эндотелиальной дисфункцией, микротромбозом, интерстициальным и альвеолярным отеком, гибелью альвеолярных эпителиальных клеток и активацией макрофагов [9].

Лейтрагин — это гексапептид, агонист δ -опиоидных рецепторов с аминокислотной последовательностью Туг-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg, структурный аналог фрагмента 1–6 эндогенного опиоидного пептида динорфина 1–17, полученный заменой остатка Gly во втором положении на D-Ala. Динорфин 1–17 производится многими клетками, в т. ч. лейкоцитами, и подвергаясь биотрансформации в месте воспаления с образованием фрагментов, в т. ч. динорфина 1–6, способен ингибировать канонический путь активации транскрипционного ядерного фактора каппа В (NF- κ B), подавляя т. о. транскрипционную активацию NF- κ B-зависимых генов, кодирующих провоспалительные цитокины, хемокины и др. медиаторы воспаления [2].

Цель работы — изучение клеточного состава бронхоальвеолярного лаважа в мо-

дели фатального ОРДС у мышей линии C57Bl/6Y с последующим однократным введением Лейтрагина в качестве лечения.

Материалы и методы

Дизайн эксперимента

Исследования проводились в Научном центре биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства (ФГБУН НЦБМТ ФМБА России) на мышцах-самцах линии C57Bl/6Y массой 18–21 г, полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России и прошедших 14-дневный карантин. Содержание и обращение с животными в эксперименте соответствовали требованиям приказа Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики»; правилам, принятым Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [3]; утвержденному письменному протоколу, в соответствии со Стандартными операционными процедурами исследователя (СОП); санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) [7]. Животные содержались в вентилируемых клетках при температуре воздуха 20–22°C, относительной влажности 40–60%, световом режиме 12:12 с включением света в 8.00. Использовался полнорационный корм ПК-120 (ООО «Лабораторкорм», Россия) при свободном доступе к водопроводной питьевой воде.

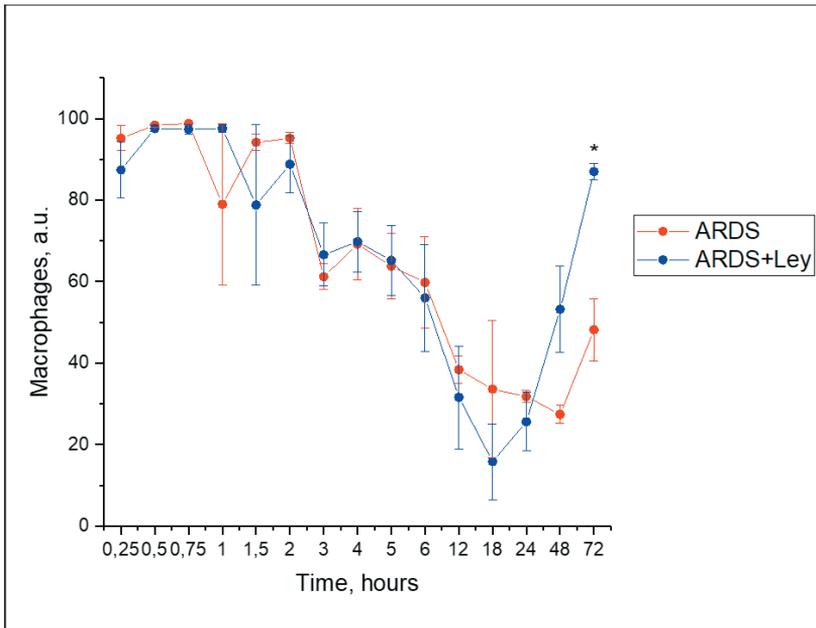


Рис. 1. Изменение процентного содержания макрофагов в БАЛЖ у мышей с ОРДС. ARDS — группа мышей с ОРДС, ARDS+Ley — группа мышей с ОРДС, однократно получивших Лейтрагин.

Примечание: * — статистически значимое отличие на 72 ч.

Fig. 1. Changes in the percentage of macrophages in BALF in mice with ARDS. ARDS — a group of mice with ARDS, ARDS+Ley — a group of mice with ARDS upon a single administration of Leutragine.

Note: * — statistically significant difference at 72 hours.

Модель острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС)

Животные были отобраны в эксперимент методом рандомизации и разделены на две группы по 75 особей в каждой. Обеим группам животных вводили ингаляционно внутрилегочно α -галактозилцерамид в дозе 1 мкг/мышь и через 24 ч под общим наркозом вводили интратрахеально смесь липополисахарида *E. coli* в количестве 1 мг/мышь с добавлением 10 мкл/мышь полного адьюванта Фрейнда, обозначаемую как LPS [1]. Далее одной из групп через 30 мин после введения LPS ингаляционно вводили Лейтрагин в дозе 100 мкг/мышь.

В каждую временную точку — 15, 30 и 45 мин, 1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18, 24, 48 и 72 ч — выводили 5 животных из каждой группы. Точка отсчета — через 30 мин

после ингаляции Лейтрагином. Животные подвергались эвтаназии, после чего отбирали бронхоальвеолярную легочную жидкость (БАЛЖ).

Получение БАЛЖ (смыва) — это процедура, используемая для изучения клеточного и внеклеточного содержимого пространства легких [4]. В качестве жидкости для промывания использовали изотонический физ. р-р. Чтобы избежать повреждения тканей легкого в результате введения омывающей жидкости, объем составил 1 мл [4]. Промывку делали два раза, осторожно вводя раствор в легкие и выкачивая его обратно. Для подсчета общего количества клеток и их дифференцировки образец БАЛЖ прогоняли через гематологический анализатор Mindray BC-3600, далее центрифугировали, клеточный осадок наносили на предметное стекло с последующей окра-

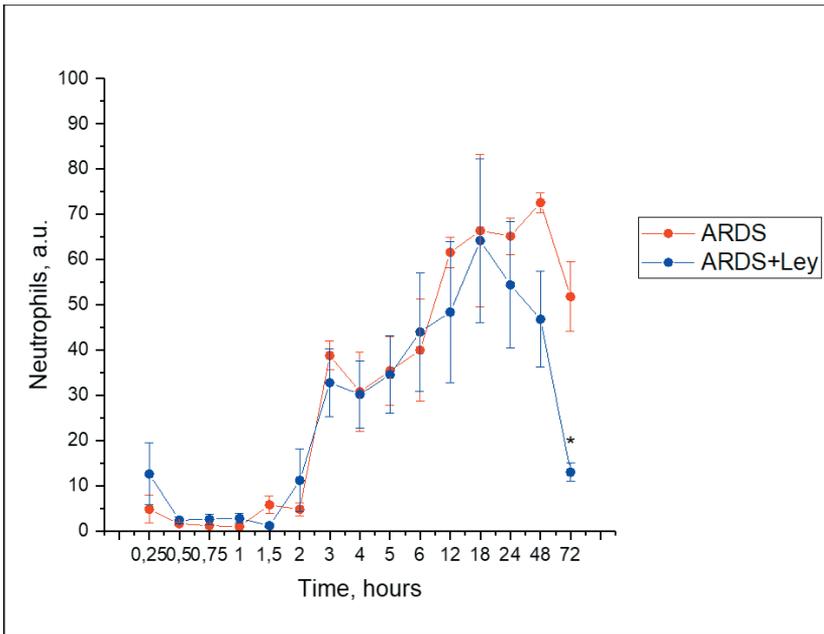


Рис. 2. Изменение процентного содержания нейтрофилов в БАЛЖ у мышей с ОРДС. ARDS — группа мышей с ОРДС, ARDS+Ley — группа мышей с ОРДС, однократно получивших Лейтрагин.

Примечание: * — статистически значимое отличие на 72 ч.

Fig. 2. Changes in the percentage of neutrophils in BALF in mice with ARDS. ARDS — a group of mice with ARDS, ARDS+Ley — a group of mice with ARDS upon a single administration of Leutragine.

Note: * — statistically significant difference at 72 hours.

ской. Окрашенные препараты микроскопировали для определения лейкоцитарного состава БАЛЖ.

Статистическую обработку проводили двухфакторным дисперсионным анализом (two-way ANOVA), пост-тест Бонферрони, с использованием программного обеспечения GraphPad Prism. Уровень достоверности был установлен в 95% ($p < 0,05$). Статистически значимые результаты отмечены звёздочками.

Результаты и их обсуждение

Основным компонентом БАЛЖ здоровых животных является легочный макрофаг (90% от общего количества клеток). Содержание нейтрофилов очень мало, и приток этих клеток является чувствительным индикатором воспалительного ответа [6].

Выводы

1. Модель ОРДС характеризуется обратимой двухфазной динамикой макрофагов (временное снижение) и нейтрофилов (временное повышение) в БАЛЖ.

2. Лейтрагин не влияет на первую фазу, которая характеризуется привлечением нейтрофилов в легкие. Однако однократное введение Лейтрагина достоверно снижает процентное содержание нейтрофилов к 72 ч с одновременным нарастанием макрофагов по сравнению с моделью. Т. о., Лейтрагин сокращает время восстановления нормального клеточного состава БАЛЖ у животных с ОРДС.

3. Исследование динамики клеточного состава в БАЛЖ является эффективным методом изучения воспалительных процессов в легких, а также поиска препаратов, подавляющих воспаление.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Каркищенко В.Н., Помыткин И.А., Гасанов М.Т., Нестеров М.С., Фокин Ю.В., Табоякова Л.А., Алимкина О.В., Хвостов Д.В. Лейтрагин повышает выживаемость животных в модели фатального острого респираторного дистресс-синдрома при профилактическом и лечебном режимах введения. *Биомедицина*. 2020;16(4):44-51. [Karkischenko V.N., Pomytkin I.A., Gasanov M.T., Nesterov M.S., Fokin Yu.V., Taboyakova L.A., Alimkina O.V., Hvostov D.V. Lejtragin povyshayet vyzhivaemost' zhivotnyh v modelifatal'nogo ostrogo respiratornogo distress-sindroma pri profilakticheskom i lechebnom rezhimakh vvedeniya [Leytragine increases the survival rate of animals in a model of fatal acute respiratory distress syndrome with preventive and therapeutic modes of administration]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2020;16(4):44-51. (In Russian)].
2. Помыткин И.А., Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Нестеров М.С., Петрова Н.В. Модель фатального острого поражения легких и острого респираторного дистресс-синдрома. *Биомедицина*. 2020;16(4):24-33. [Pomytkin I.A., Karkischenko V.N., Fokin Yu.V., Nesterov M.S., Petrova N.V. Model' fatal'nogo ostrogo porazheniya legkih i ostrogo respiratornogo distress-sindroma. [Model of fatal acute lung injury and acute respiratory distress syndrome]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2020;16(4):24-33. (In Russian)].
3. *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123)*, Strasbourg, 1986.
4. Henderson R.F. Use of bronchoalveolar lavage to detect respiratory tract toxicity of inhaled material. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2005;57:155-159. DOI:10.1016/j.etp.2005.05.004.
5. Iribarren C., Jacobs D.R., Sidney S., Gross M.D., Eisner M.D. Cigarette smoking, alcohol consumption, and risk of ARDS: a 15-year cohort study in a managed care setting. *Chest*. 2000;117(1):163-168. DOI: 10.1378/chest.117.1.163. PMID 10631215.
6. Kodavanti U.P. Respiratory toxicity biomarkers. Biomarkers in Toxicology. *Academic Press*. 2014:217-239. DOI: 10.1016/B978-0-12-404630-6.00012-9.
7. Loscalzo J., Longo D.L., Fauci A.S., Dennis L.K., Hauser S.L. Harrison's Principles of Internal Medicine, 18th Ed. *McGraw-Hill Education*, 2011. – ISBN 0-07-174889-X.
8. Matthay M.A., Zemans R.L., Zimmerman G.A., Arabi Y.M., Beitler J.R., Mercat A., Herridge M., Randolph A.G., Calfee C.S. Acute respiratory distress syndrome. *Nature Reviews. Disease Primers*. 2019;5(1):18. DOI:10.1038/s41572-019-0069-0. PMC 6709677. PMID 30872586.
9. Potey P.M., Rossi A.G., Lucas C.D., Dorward D.A. Neutrophils in the initiation and resolution of acute pulmonary inflammation: understanding biological function and therapeutic potential. *J. Pathol*. 2019;247(5):672-685.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

Петренко Александра Эдуардовна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: pae@scbmt.ru

Савченко Елена Сергеевна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: savelaine@gmail.com

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

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

Aleksandra E. Petrenko, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: pae@scbmt.ru

Elena S. Savchenko, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: savelaine@gmail.com

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

Табоякова Лидия Александровна, ФГБУН
«Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»;
e-mail: lida-vet@mail.ru

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

Максименко Сергей Васильевич, к.б.н.,
ФГБУН «Научный центр биомедицинских тех-
нологий ФМБА России»;
e-mail: vx136@rambler.ru

Sergey V. Maksimenko, Cand. Sci. (Biol.),
Scientific Center of Biomedical Technologies of the
Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: vx136@rambler.ru

Скрипкина Мария Михайловна, ФГБУН
«Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»;
e-mail: skripkina.fmba@gmail.com

Mariya M. Skripkina, Scientific Center of
Biomedical Technologies of the Federal Medical
and Biological Agency of Russia;
e-mail: skripkina.fmba@gmail.com

Борисова Мария Михайловна, ФГБУН
«Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»;
e-mail: borisova_mm@mail.ru

Mariya M. Borisova, Scientific Center of
Biomedical Technologies of the Federal Medical
and Biological Agency of Russia;
e-mail: borisova_mm@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ОСТРОГО ТЯЖЕЛОГО ОТРАВЛЕНИЯ ТИОПЕНТАЛОМ НАТРИЯ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СВЕТОВОГО ДЕСИНХРОНОЗА

Е.Г. Батоцыренова^{1,2,*}, В.А. Кашуро¹, А.В. Шарабанов³

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

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический
медицинский университет» Минздрава России
194100, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

³ ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, 1

В экспериментальном исследовании изучали возможность использования пептидного экстракта из гипофиза северного оленя (*Rangifer tarandus*) для коррекции функционального состояния организма при сочетанном воздействии на крыс острого тяжелого отравления тиопенталом натрия в дозе ЛД₅₀ в условиях длительного светового десинхроноза с помощью статистического метода — дисперсионного двухфакторного анализа. Установили, что при постоянном освещении применение пептидного экстракта из гипофиза северного оленя эффект взаимодействия проявился на значениях показателей концентрации диеновых конъюгат, активности глутатион-S-трансферазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, при постоянной темноте — на значениях показателей активности глутатион-S-трансферазы, глутатионпероксидазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

Ключевые слова: крысы, сочетанное действие, световой десинхроноз, тиопентал натрия, биоактивные пептиды гипофиза, фармакологическая коррекция

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Шарабанов А.В. Фармакологическая коррекция отдаленных последствий острого тяжелого отравления тиопенталом натрия в условиях хронического светового десинхроноза. *Биомедицина*. 2021;17(3):23–28. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-23-28>

Поступила 12.05.2021

Принята после доработки 25.05.2021

Опубликована 10.09.2021

PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF LONG-TERM EFFECTS OF ACUTE SEVERE POISONING WITH SODIUM THIOPENTAL UNDER CHRONIC LIGHT DESYNCHRONOSIS

Ekaterina G. Batotsyrenova^{1,2,*}, Vadim A. Kashuro¹, Andrey V. Sharabanov³

¹ Golikov Research Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
192019, Russian Federation, Saint-Petersburg, Bekhtereva Str., 1

² St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health Care of Russia
194100, Russian Federation, Saint-Petersburg, Litovskaya Str., 2

³ Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1

We experimentally studied the possibility of using a peptide extract from the pituitary gland of a reindeer (*Rangifer tarandus*) to correct the functional state of the body under the combined effect of acute severe poisoning with sodium thiopental in rats, at a dose of LD₅₀ under long-term light desynchronosis. The research was conducted using the statistical method of two-factor analysis of variance. It was found that, under constant light, a peptide extract from the pituitary gland of a reindeer affects such parameters as diene conjugates concentration, the activity of glutathione-S-transferase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. Under prolonged darkness, the extract under study affected the activity of glutathione-S-transferase, glutathione peroxidase and glucose-6-phosphate dehydrogenase.

Keywords: rats, combined action, light desynchronosis, sodium thiopental, bioactive pituitary peptides, pharmacological correction

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

For citation: Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Sharabanov A.V. Pharmacological Correction of Long-Term Effects of Acute Severe Poisoning with Sodium Thiopental under Chronic Light Desynchronosis. *Journal Biomed.* 2021;17(3):23–28. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-23-28>

Submitted 12.05.2021

Revised 25.05.2021

Published 10.09.2021

Введение

Циркадианные ритмы считаются особенностью всех живых организмов. Циркадное хронометражирование дает преимущество при смене экологических циклов и способствует смягчению реактивности организма при воздействии различных факторов как эндогенного, так и экзогенного происхождения. Предполагается, что эта древняя эволюционная адаптация обусловлена поддержанием достаточной концентрации кислорода в клетке и системы белков, поддерживающих гомеостаз активных форм кислорода, что важно для формирования циркадианных ритмов. Исследования последних лет подтверждают взаимодействие между окислительно-восстановительным

равновесием и транскрипционным осциллятором с помощью редокс-чувствительных транскрипционных факторов и ферментов [5]. Нарушение периодичности поступления светового сигнала является одной из причин развития психических нарушений, ускоренного старения организма.

Нарушение циркадианных ритмов наблюдается при токсических поражениях ЦНС и представляется ранними и отдаленными последствиями. При этом отдаленные последствия поражения ЦНС, проявляющиеся неврологическими и психическими нарушениями, требуют фармакологической коррекции.

Перспективным направлением поиска потенциальных лекарственных средств,

предназначенных для коррекции отдельных последствий токсических поражений, являются регуляторные пептиды, которые способствуют повышению резистентности организма к воздействию неблагоприятных факторов и не оказывают значительных побочных явлений.

В связи с этим **целью** данного исследования явилось изучение влияния пептидного экстракта из гипофиза северного оленя (*Rangifer tarandus*) на антиоксидантную систему крови крыс в условиях светового десинхроноза.

Материалы и методы

В целях моделирования десинхроноза с измененным световым режимом проводили опыты на белых беспородных крысах-самцах в возрасте 2-х мес. массой 160–200 г из питомника «Рапполово» (Ленинградская обл.) и прошедших 14-дневный карантин. Содержание и обращение с животными соответствовало требованиям ГОСТ 33216–2014 от 01.07.2016. Протокол эксперимента был одобрен биоэтической комиссией ФГБУ НКЦТ им. акад. С.Н. Голикова ФМБА России. В помещении вивария поддерживалась температура воздуха 21–25°C и относительная влажность 50–65%. Режим питания и доступ к воде свободный. Крысам, включенным в контрольную и опытную группы, вводили депримирующий агент — тиопентал натрия в дозе ЛД₅₀ (85 мг/кг массы животного внутривенно). Токсикант крысам вводился однократно. На следующий день после введения нейротоксиканта выжившие животные из контрольной и опытной групп помещались в условия с разным режимом освещения, а именно: режим обычного освещения (12:12, 500 лк), режим постоянного освещения и режим полной темноты. Продолжительность эксперимента составляла 3 мес. [1]. В каждую подгруппу было включено по 6 животных. Через 3 мес. от начала эксперимента крысы подверга-

лись эвтаназии для взятия биологического материала.

Фармакологическую коррекцию у животных опытных подгрупп проводили пептидным экстрактом гипофиза северного оленя (РЕР). После осуществления всех технологических процедур получения пептидного экстракта и последующей очистки РЕР представлял собой стерильный лиофилизированный мелкодисперсный порошок от светло-серого до белого цвета. РЕР является набором водорастворимых олиго- и полипептидных фракций вплоть до мономерных субъединиц, выделенных химическим лизисом и экстрагированием из гипофиза северного оленя.

Фармакологическая коррекция РЕР проводилась в течение 14-ти дней после отравления нейротоксикантом. РЕР использовали в первую половину объективного дня, вводя пептидный экстракт в дозе 100 мкг/кг массы тела, интраназально, один раз в сутки. Для проведения биохимических исследований использовали эритроцитарную взвесь, получаемую центрифугированием цельной крови животных при 3000 об./мин в течение 3-х мин с последующей трехкратной отмывкой физ. р-ром и поэтапным центрифугированием при тех же условиях. Из отмываемых эритроцитов готовили гемолизаты, в которых определяли следующие показатели: активность супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) и концентрацию гемоглобина (Hb) в гемолизате эритроцитов определяли на биохимическом анализаторе «А-25», используя коммерческие наборы фирмы «RanDox» (Великобритания). Определение активности глутатион-S-трансферазы (ГТ) проводили по методу W. H. Habig и W. B. Jakoby [4]. Для оценки процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в исследуемых гемолизатах определяли концентрацию диеновых конъюгатов (ДК) [2] и малонового диальдегида (МДА)

Таблица 1. Оценка фармакологической коррекции на показатели АОС и процессов ПОЛ в гемоллизате эритроцитов при постоянном освещении (дисперсионный двухфакторный анализ)

Table 1. Pharmacological correction for AOS and LPO processes in erythrocyte hemolysate under constant light (two-factor analysis of variance)

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,2	0,003*	0,3	0,001*	0,03	0,2	0,4
МДА	0,3	0,0001*	0,4	9,32x10^{-6*}	0,01	0,5	0,3
ДК	0,5	4,83x10^{-9*}	0,3	1,03x10^{-7*}	0,1	0,007*	0,1
СОД	0,1	0,150	0,03	0,3	0,0001	0,9	0,9
ГТ	0,5	0,0005*	0,002	0,7	0,004	0,6	0,5
ГП	0,03	0,361	0,113	0,09	0,1	0,09	0,7
ГР	0,9	1,89x10^{-15*}	0,008	0,06	0,01	0,050*	0,04
Г-6-ФДГ	0,5	1,74x10^{-5*}	0,1	0,022*	0,08	0,037*	0,3

Примечание: * — достоверное взаимодействие факторов ($p < 0,05$, MANOVA).

Note: * — significant interaction of factors ($p < 0.05$, MANOVA).

Таблица 2. Оценка фармакологической коррекции на показатели АОС и процессов ПОЛ в гемоллизате эритроцитов при постоянной темноте (дисперсионный двухфакторный анализ)

Table 2. Pharmacological correction for AOS and LPO processes in erythrocyte hemolysate under constant light (two-factor analysis of variance)

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,07	0,208	0,07	0,192	0,04	0,3	0,8
МДА	0,4	0,0003*	0,2	0,002	0,0001	0,9	0,4
ДК	0,5	6,74x10^{-7*}	0,3	7,56x10^{-5*}	0,004	0,5	0,2
СОД	0,04	0,357	0,001	0,952	0,002	0,8	0,9
ГТ	0,4	9,66x10^{-15*}	0,4	1,97x10^{-14*}	0,2	1,94x10^{-11*}	0,02
ГП	0,2	0,011*	0,1	0,039	0,3	0,001*	0,4
ГР	0,9	5,32x10^{-16*}	0,02	0,001*	0,02	0,001*	0,02
Г-6-ФДГ	0,496	8,69x10^{-5*}	0,031	0,238	0,059	0,1	0,413

Примечание: * — достоверное взаимодействие факторов ($p < 0,05$, MANOVA).

Note: * — significant interaction of factors ($p < 0.05$, MANOVA).

[6], концентрацию восстановленного глутатиона (ВГ) [3]. Концентрацию исследуемых продуктов и активность ферментов в гемоллизате эритроцитов пересчитывали на 1 г гемоглобина.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием программного обеспечения методом двухфакторного дисперсионного анализа в пакете статисти-

ческого анализа данных Excel for Windows (MANOVA), значимость отдельных факторов, их взаимодействия и неконтролируемых факторов оценивали по коэффициенту детерминации.

Результаты и их обсуждение

Результаты анализа влияния РЕР на показатели ПОЛ и антиоксидантной системы

(АОС) в эритроцитах крысы при сочетанном воздействии факторов различной природы при разных световых режимах представлены в табл. 1 и 2.

Сравнение значений коэффициентов детерминации показало, что при постоянном освещении взаимодействие между контролируемыми факторами выражено в показателях концентрации диеновых конъюгат, активности глутатионредуктазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. При этом наибольший вклад в это взаимодействие вносят изменения значений показателя диеновых конъюгат и активность Г-6-ФДГ.

Сравнение значений коэффициентов детерминации показало, что при постоянной темноте взаимодействие между контролируемыми факторами выражено в показателях активности глутатион-S-трансферазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы. При этом наибольший вклад в это взаимодействие вносит изменения значений показателя глутатионпероксидазы.

Выводы

1. Пептидный экстракт гипофиза северного оленя (РЕР) в дозе 100 мкг/кг в условиях светового десинхроноза при постоянном

освещении восстанавливает функциональное состояние организма и поддерживает эндогенную циркадианную осцилляцию после острого тяжелого отравления депримирующим агентом за счет нормализации показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы, которое проявляется на значениях концентрации диеновых конъюгат, активности глутатион-S-трансферазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы,

2. РЕР в дозе 100 мкг/кг в условиях светового десинхроноза при постоянной темноте восстанавливает функциональное состояние организма и поддерживает эндогенную циркадианную осцилляцию после острого тяжелого отравления депримирующим агентом за счет нормализации показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы, которое проявляется на значениях активности глутатион-S-трансферазы, глутатионпероксидазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

3. РЕР, предназначенный для коррекции отдаленных последствий, вызванных десинхронозом, является перспективным средством, используемым в составе фармнатурентов, биологически активных добавок и лекарственных препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Батоцыренова Е.Г., Золотоверхая Е.А., Кашуро В.А., Шарабанов А.В. Изменение биохимических показателей в сыворотке крови при хроническом световом десинхронозе. *Биомедицинская химия*. 2020; 66:450-455. [Batocyrenova E.G., Zolotoverhaya E.A., Kashuro V.A., Sharabanov A.V. Izmnenie biokhimicheskikh pokazatelej v syvorotke krovi pri khronicheskom svetovom desinhronoze [Changes in biochemical parameters in blood serum in chronic light desynchronization]. *Biomedicinskaya himiya [Biomedical chemistry]*. 2020;66:450-455. (In Russian)].
2. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот. *Современные методы в биохимии*. Под ред. В.Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977:63-64. [Stal'naya I.D. Metod opredeleniya dienovoj kon'yugacii nenasyshchennyh vysshih zhirnyh kislot [Method for determination of diene conjugation of unsaturated higher fatty acids]. *Sovremennye metody v biokhimii [Modern methods in biochemistry]*. Ed. by V.N. Orekhovich. Moscow: Meditsina Publ., 1977:63-64. (In Russian)].
3. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1959;82(1):70-77.
4. Habig W.H. Assay for differentiation of glutathione S-transferases. *Methods in Enzymology*. 1981;77:398-405.
5. Reddy A.B., Rey G. Interplay between cellular redox oscillation. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2015;17(1):55-64.
6. Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*. 1978;86(1):271-278.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Батоцыренова Екатерина Геннадьевна*, к.б.н., доц., ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. акад. С.Н. Голикова ФМБА России», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: bkaterina2009@yandex.ru

Кашуро Вадим Анатольевич, д.м.н., доц., ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. акад. С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: kashuro@yandex.ru

Шарабанов Андрей Вячеславович, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: shav@scbmt.ru

Ekaterina G. Batotsyrenova*, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Golikov Research Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: bkaterina2009@yandex.ru

Vadim A. Kashuro, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Golikov Research Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: kashuro@yandex.ru

Andrey V. Sharabanov, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: shav@scbmt.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-29-33>



ЗООТЕХНИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ВОЛЬЕРНОГО СОДЕРЖАНИЯ КАБАРГИ С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА МУСКУСА

М.М. Борисова^{1,*}, М.А. Чечушков², М.С. Нестеров¹

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

² Ассоциация «Центр поддержания популяции редких видов животных «Алтайэкоосфера»
649002, Российская Федерация, Республика Алтай, Горно-Алтайск, ул. Промышленная, 5/1, офис 7

Видовой состав флоры региона обитания кабарги влияет на состав мускуса. Проведен микроэлементный анализ компонентов растений, собранных из естественных ареалов кабарги, с целью оптимизации рациона кормления кабарги при полувольном содержании.

Ключевые слова: кабарга, мускус, рацион, газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Борисова М.М., Чечушков М.А., Нестеров М.С. Зоотехнический анализ функциональных параметров вольерного содержания кабарги с целью повышения качественного состава мускуса. *Биомедицина*. 2021;17(3):29–33. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-29-33>

Поступила 20.04.2021

Принята после доработки 17.05.2021

Опубликована 10.09.2021

A ZOOTECHNICAL ANALYSIS OF THE FUNCTIONAL PARAMETERS OF GRAZING KABARGA DEER WITH THE PURPOSE OF INCREASING THE MUSK QUALITY

Mariya M. Borisova^{1,*}, Mikhail A. Chechushkov², Maksim S. Nesterov¹

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

² Association «Center for Maintaining the Population
of Rare Species of Animals «Altayekosphaera»»
649002, Russian Federation, Republic of Altai, Gorno-Altaysk, Promyshlennaya Str., 5/1, office 7

The species flora composition of regions inhabited by musk deer affects the musk quality. A microelement analysis of plants collected from natural ranges of musk deer was carried out in order to optimize the diet of musk deer under open grazing.

Keywords: musk deer, musk, diet, gas chromatography-mass spectrometry

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

For citation: Borisova M.M., Chechushkov M.A., Nesterov M.S. A Zootechnical Analysis of the Functional Parameters of Grazing Kabarga Deer with the Purpose of Increasing the Musk Quality. *Journal Biomed.* 2021;17(3):29–33. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-29-33>

Submitted 20.04.2021

Revised 17.05.2021

Published 10.09.2021

Введение

Известно, что видовой состав флоры региона обитания кабарги может влиять на состав мускуса. А это значит, что приоритетно выявление растений, содержащих наиболее выраженный химический профиль [1]. Наиболее перспективным способом использования биологических ресурсов кабарги является введение ее в зоокультуру путем полувольного содержания. По литературным данным установлено, что кабарга в естественных условиях обитания потребляет примерно 50 видов растений, в т. ч. мхи и лишайники [2, 3].

Целью работы является оптимизация рациона кормления кабарги при полувольном содержании для повышения качественного состава продуцируемых БАВ (мускуса).

Исходя из цели, были сформулированы следующие задачи:

1. Провести сбор растений, потребляемых кабаргой в естественных условиях обитания и при полувольном содержании.
2. Провести микроэлементный анализ компонентов растений, собранных из естественных ареалов кабарги и скормливаемых животным, находящимся в искусственных условиях содержания.

Материалы и методы

При содержании кабарги в искусственных условиях на базе питомника филиала «Алтайский» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России был составлен рацион из следующих компонентов: лишайник (300 г), веники из растений лиственных пород, грибы (50 г), овсяная крупа (150–200 г), сухофрукты (200 г), витаминно-минераль-

ный комплекс (по мере потребления). Вода для поения — не менее трёх литров в день. На текущем рационе выращены несколько поколений кабарги в искусственных условиях. Для повышения качественного состава мускуса необходима оптимизация рациона с добавлением растений максимально широкого химического спектра.

В анализе использовались следующие образцы: лишайник *Usnea sibirica*, берёза *Betula pendula*, бадан *Bergenia crassifolia*, рододендрон *Rhododendron daurica*, крапива *Urtica angustifolia*, красный корень (копеченик, *Hedysarum*). Растения были законсервированы и транспортированы с Алтая в НЦБМТ ФМБА России. Подготовка проб проходила стандартными способами. Качественный и количественный анализ проводили на анализаторе с масс-спектрометрическим детектором, сопряженным с газовым хроматографом «Хроматэк-Кристалл 5000» и жидкостным дозатором ДАЖ-2 М (3 Д).

Для надежной идентификации дериватов весь пул хроматографически разделенных компонентов был идентифицирован нами в автоматическом режиме (библиотека NIST17 MS Library) и подвергнут ранжированию по вкладам площадей каждого компонента в общий ион-ток и степени достоверности предложенных структур.

Результаты исследований

Микроэлементный анализ компонентов растений, собранных из естественных ареалов кабарги и скормливаемых кабарге в искусственных условиях содержания, представлен на рисунке.

Уснея — род лишайников семейства Пармелиевые, включающий в себя около

300 видов, особенно широко представленный в умеренной лесной зоне. В составе экстракта лишайника нами были определены следующие классы соединений: органические и жирные кислоты (2,4%); спирты и фенолы (15,2%); простые углеводы и сахара (32,2%); без точной идентификации (5,0%); сквалены (5,8%); действующие вещества (39,4%). Основные идентифицированные компоненты: арабитол (24,0%); ксилит (7,9%); дегидрацетовая кислота (7,4%); изопимаровая кислота (3,2%).

Берёза повислая — вид растений семейства Берёзовые. В составе экстракта берёзы нами были найдены следующие классы соединений: органические и жирные кислоты (8,0%); спирты и фенолы (26,0%); простые углеводы и сахара (20,7%); без точной идентификации (21,8%); сквалены (6,3%); действующие вещества (17,2%). Основные идентифицированные компоненты: фруктоза (11,0%); фитол (8,4%); бета-ситостерин (5,8%); карбоксибупрофен (2,0%).

Бадан толстолистный, или Камнеломка толстолистная, или Монгольский чай — многолетнее травянистое растение, типовой вид семейства Камнеломковые. В составе экстракта бадана были определены следующие классы соединений: органические и жирные кислоты (0,2%); спирты и фенолы (74,1%); простые углеводы и сахара (3,9%); без точной идентификации (11,3%); действующие вещества (10,5%). Основные идентифицированные компоненты: гидрохинон (72,5%); арбутин (8,5%); бета-ситостерин (0,88%); галловая кислота (0,43%).

Рододендрон даурский — листопадный либо вечнозелёный кустарник семейства Вересковые, распространённый в Азии к востоку от Алтайских гор. В составе экстракта рододендрона нами были найдены следующие классы соединений: органические и жирные кислоты (3,6%); спирты и фенолы (7,1%); простые углеводы и сахара (3,1%); без точной идентификации (7,0%); сквалены (12,1%); действующие

вещества (67,1%). Основные идентифицированные компоненты: аскаридол (54,1%); 3,7-Cyclodecadien-1-one, 3,7-dimethyl-10-(1-methylethylidene (8,3%); бутантриол (4,8%); урсоловая кислота (4,6%).

Крапива узколистная — лекарственное растение семейства Крапивные, произрастающее на Алтае и Дальнем Востоке. В составе экстракта крапивы нами были выявлены следующие классы соединений: органические и жирные кислоты (14,2%); спирты и фенолы (2,0%); простые углеводы и сахара (3,8%); без точной идентификации (6,3%); сквалены (0,1%); действующие вещества (73,7%). Основные идентифицированные компоненты: ди- и моноацетин (68,5%); альфа-линоленовая кислота (8,1%); бета-ситостерин (3,5%); 9,12-Octadecadienoic acid (3,2%).

Красный корень, или Копеечник забытый, — травянистое растение семейства Бобовые, встречающееся в Сибири, Средней Азии, Северной Монголии и Северо-Западном Китае. Анализ состава экстрактов Красного корня без дериватизации представлен малым количеством компонентов в сравнении с профилем состава с предварительным силилированием. Количество определяемых соединений в экстракте Красного корня в различных условиях экстрагирования и последующей дериватизацией достигает 70–90 хроматографически разделяемых компонентов. Состав экстрактов Красного корня многообразен и представлен широким классом соединений, их модификаций и имеет 15 основных групп веществ.

Закключение

Установлено, что максимальное количество полезных химических веществ обнаруживается в рододендроне — 66 компонентов. А наиболее интересным по биологически активным компонентам является лишайник рода *Usnea* и экстракты красного корня рода Копеечника. В них

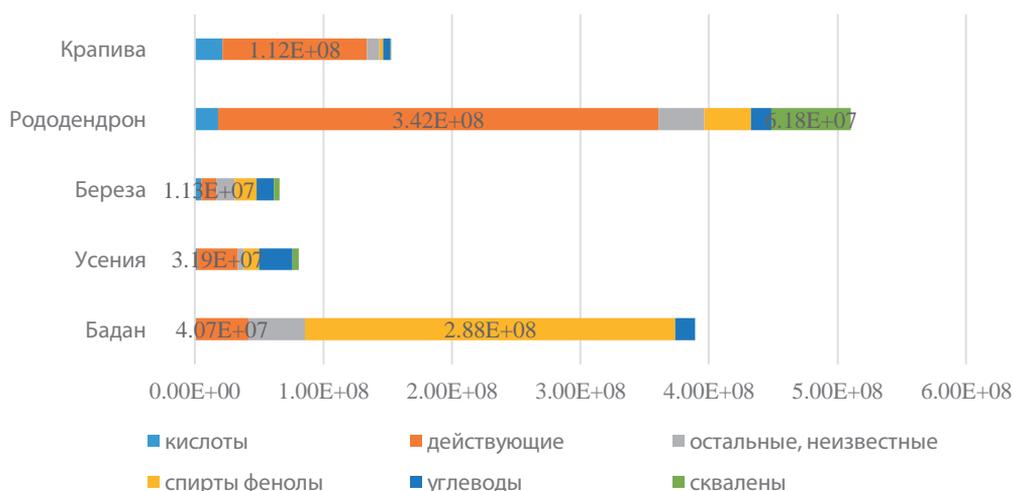


Рис. Содержание химических веществ в растениях кормовой базы кабарги.
Fig. Contents of chemical compounds in the plants grazed by musk deer.

обнаружены такие вещества, как арабитол, изопимаровая кислота, норэпинефрин, бензамид, дегидроуксусная кислота, абиетиновая кислота, глицеринтринитрат, лонгифолен и др. Примечательно то, что только сибирская кабарга имеет характерную биологическую особенность — способность питаться лишайниками рода *Usnea*.

Больше всего спиртов и фенолов было обнаружено в бадане (74%), в берёзе (26%) и в лишайнике (15,2%). По углеводному

составу наиболее выделяется лишайник (32,2%), следом по количеству углеводов следует берёза (20,7%). Сквалены лучше всего представлены в рододендроне (12,1%), берёзе (6,8%) и в лишайнике (5,8%).

Для успешного содержания кабарги в искусственных условиях и получения качественного мускуса необходимо внимательно следить за разнообразием рациона питания животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Каркищенко Н.Н., Петрова Н.В., Каркищенко В.Н., Слободенюк В.В., Воронова М.И., Фокин Ю.В. Сравнительное медико-генетическое исследование мускуса кабарги сибирской (*Moschus moschiferus*). *Биомедицина*. 2018;1:6–19. [Karkischenko N.N., Petrova N.V., Karkischenko V.N., Slobodenyuk V.V., Voronova M.I., Fokin Yu.V. Sravnitel'noe mediko-geneticheskoe issledovanie muskusa kabargi sibirskoj (*Moschus moschiferus*) [Comparative medico-genetic study of Siberian musk deer (*Moschus moschiferus*)]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2018;1:6–19. (In Russian)].
2. Приходько В.И. *Кабарга: происхождение, систематика, экология, поведение и коммуникация*. М.: ГЕОС, 2003:443. Prikhod'ko V.I. *Kabarga: proiskhozhdeniye, sistematika, ekologiya, povedeniye i kommunikatsiya* [Musk deer: origin, taxonomy, ecology, behavior and communication]. Moscow: GEOS Publ., 2003:443. (In Russian)].
3. Приходько В.И. *Разведение кабарги*. Научн.-практ. реком. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008:142. [Prikhod'ko V.I. *Razvedeniye kabargi: Nauchn.-prakt. rekom.* [Breeding of musk deer: Scientific-practical. recom.]. Moscow: Tovarithchestvo nauchnykh izdaniy KMK Publ., 2008:142. (In Russian)].

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Борисова Мария Михайловна*, ФГБУН
«Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»;

e-mail: borisova_mm@mail.ru

Чечушков Михаил Алексеевич, ассоциация
«Центр поддержания популяции редких видов
животных “Алтайэкофера”»;

e-mail: wolker61@mail.ru

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

e-mail: mdulya@gmail.com

Mariya M. Borisova*, Scientific Center of
Biomedical Technologies of the Federal Medical
and Biological Agency of Russia;

e-mail: borisova_mm@mail.ru

Mikhail A. Chechushkov, Association «Center for
maintaining the population of rare species of ani-
mals “Altayekosphaera”»;

e-mail: wolker61@mail.ru

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

e-mail: mdulya@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ВЛИЯНИЕ ИСХОДНЫХ ПАРАМЕТРОВ КОАГУЛОГРАММЫ И ВРЕМЕННОГО ИНТЕРВАЛА МЕЖДУ ГЕМОСТАТИКАМИ И АНТИКОАГУЛЯНТАМИ НА РИСК РАЗВИТИЯ ТРОМБОГЕМОРРАГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КРУПНЫХ СУСТАВОВ

Л.С. Головко*, А.В. Сафроненко, Ю.С. Макляков, Е.В. Ганцгорн,
Н.В. Сухорукова, А.В. Каплиев

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

В статье представлена значимость временного интервала между гемостатической и антикоагулянтной профилактикой не менее 18-ти ч, особенно в случае применения транексамовой кислоты. Был проведен анализ развившихся тромбогеморрагических осложнений в раннем послеоперационном периоде после эндопротезирования крупных суставов нижних конечностей. Также определены наиболее значимые параметры коагулограммы, при отклонении от нормы которых до операции повышался риск развития тромбозов и кровотечений после замены сустава среди пациентов мужского и женского пола.

Ключевые слова: антикоагулянты, гемостатики, временной интервал, тромбогеморрагические осложнения, эндопротезирование

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Головко Л.С., Сафроненко А.В., Макляков Ю.С., Ганцгорн Е.В., Сухорукова Н.В., Каплиев А.В. Влияние исходных параметров коагулограммы и временного интервала между гемостатиками и антикоагулянтами на риск развития тромбогеморрагических осложнений после эндопротезирования крупных суставов. *Биомедицина*. 2021;17(3):34–38. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-34-38>

Поступила 20.04.2021

Принята после доработки 03.06.2021

Опубликована 10.09.2021

IMPACT OF THE INITIAL COAGULATION PARAMETERS AND THE TIME INTERVAL BETWEEN HEMOSTATICS AND ANTICOAGULANTS ON THE RISK OF THROMBOHEMORRHAGIC COMPLICATIONS AFTER ENDOPROSTHETICS OF LARGE JOINTS

Liliya S. Golovko*, Andrey V. Safronenko, Yuri S. Maklyakov, Elena V. Gantsgorn,
Natalya V. Sukhorukova, Andrey V. Kapliev

Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia
344022, Russian Federation Rostov-on-Don, Nakhichevanskiy Lane, 29

The article confirms the significance of the time interval of at least 18 hours between the hemostatic and anticoagulant therapy, which is of particular importance when tranexamic acid is used. An analysis of the thrombohemorrhagic complications developed in the early postoperative period after arthroplasty of large

joints of the lower extremities was carried out. In addition, the most significant coagulation parameters were determined, whose deviation from the norm before surgery increased the risk of thrombosis and bleeding after joint replacement among male and female patients.

Keywords: anticoagulants, hemostatics, time interval, thrombohemorrhagic complications, arthroplasty

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

For citation: Golovko L.S., Safronenko A.V., Maklyakov Yu.S., Gantsgorn E.V., Sukhorukova N.V., Kapliyev A.V. Impact of the Initial Coagulation Parameters and the Time Interval between Hemostatics and Anticoagulants on the Risk of Thrombohemorrhagic Complications After Endoprosthetics of Large Joints. *Journal Biomed.* 2021;17(3):34–38. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-34-38>

Submitted 20.04.2021

Revised 03.06.2021

Published 10.09.2021

Введение

На сегодняшний день все больше растет число операций по эндопротезированию коленных и тазобедренных суставов [2, 10]. Это связано с тем, что тотальное эндопротезирование является наиболее эффективным методом лечения терминальной стадии остеоартроза, когда консервативное лечение уже не способно купировать хронический болевой синдром и положительно повлиять на двигательный режим пациента [9]. Однако в послеоперационном периоде возможно развитие различных осложнений. Так, например, тромбозы глубоких вен нижних конечностей могут регистрироваться среди 4,3–60% пациентов [1, 3]. Также в послеоперационном периоде большое значение имеют кровотечения различной степени тяжести вплоть до 20–40% от объема циркулирующей крови [5]. Для профилактики тромбозов и кровотечений после артропластики применяются антикоагулянтные и гемостатические лекарственные средства (ЛС) [4, 5]. Несмотря на значительный пул знаний по применению данных ЛС по отдельности, совместное их применение остается дискуссионным вопросом фармакологии ввиду их разнонаправленной фармакодинамики и отсутствия соответствующей информации по их взаимодействию в официальных клинических рекомендациях [7, 8]. Для прогнозирования вероятности развития тромбгеморрагических осложнений важно

учитывать не только режим назначения ЛС, но и исходное состояние коагуляционной системы, т. к. само эндопротезирование может усугубить гиперкоагуляционное состояние, наблюдающееся у пациентов, нуждающихся в замене сустава [3].

Цель работы — оценка влияния временного интервала между гемостатической и антикоагулянтной профилактикой и исходных параметров коагулограммы на развитие тромбозов и кровотечений в раннем послеоперационном периоде среди пациентов мужского и женского пола, подвергшихся эндопротезированию коленного или тазобедренного суставов.

Материалы и методы

В 2017–2019 гг. был проведен ретроспективный анализ 253-х историй болезни пациентов, которым было выполнено эндопротезирование коленного или тазобедренного сустава на базе травматолого-ортопедического отделения клиники Ростовского государственного медицинского университета (РостГМУ). Все пациенты получали совместную фармакопрофилактику гемостатическими и антикоагулянтными ЛС. Большинству пациентов гемостатическое средство назначали однократно. В случае применения двух ЛС гемостатического спектра активности первый применяли во время операции, а второй назначали

в течение первых послеоперационных суток. Антикоагулянтную профилактику тромбозов начинали на следующее утро после операции и продолжали в течение всего срока госпитализации. Первым антикоагулянтом большинству пациентов назначали либо низкомолекулярные, либо нефракционированные гепарины, а начиная с четвертых–пятых суток после операции часть пациентов переводили на новые пероральные антикоагулянты (дабигатран, ривароксабан). Т. к. в нашем исследовании чаще всего из гемостатиков применялась транексамовая кислота ($n=153$, 60,47%), то необходимо принимать во внимание, что ее антифибринолитическая активность может сохраняться в разных тканях организма до 17-ти ч [6]. С учетом этого факта были выделены две группы пациентов, разделенных по временному интервалу (ВИ) между назначением гемостатической и антикоагуляционной профилактики. В первую группу (1-я гр.) были включены 145 пациентов с $ВИ \leq 17$ ч, из них: женщин — 112 (77,24%), средний возраст — $64,32 \pm 10,22$ лет, а мужчин — 33 (22,76%), средний возраст — $63,35 \pm 9,21$ лет. Вторую группу (2 гр.) составили 108 больных с ВИ 18–24 ч, из которых: 78 (72,22%) женщин, средний возраст — $66,36 \pm 10,43$ лет и 30 (27,78%) мужчин, средний возраст $62 \pm 13,34$ лет. Сроки госпитализации в 1-й гр. у мужчин составили $11,87 \pm 4,13$ сут., у женщин — $11,37 \pm 3,88$ сут. Длительность стационарного лечения во 2-й гр. у мужчин составила $11,63 \pm 2,71$ сут., а у женщин — $11,55 \pm 3,1$ сут. У пациентов оценивали влияние временного интервала и дооперационных параметров коагулограммы на риск развития тромбозов и кровотечений в раннем послеоперационном периоде. Статистическую обработку данных проводили на ПК с применением пакета программы MS Office (Excel 2010), а также Statistica 10.0 (StatSoft, USA). Для анализа межгрупповых отличий был использован критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йетса. Для показателей, продемонстрировавших

свое влияние на развитие тромбозов и кровотечений, рассчитывались относительный риск (ОР) и границы 95% доверительного интервала (ДИ). Анализ влияния факторов риска производился отдельно для тромбозов и кровотечений в 1-й и 2-й гр. у пациентов мужского и женского пола. Различия признавались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Тромбозы и кровотечения в раннем послеоперационном периоде были зафиксированы у 27-ми (10,67%) пациентов, из них 22 (81,48%) — в 1-й гр. В 1-й гр. развилось 11 (50%) тромбозов и 11 (50%) кровотечений. Во 2-й гр. развилось 5 (18,52%) послеоперационных осложнений и все они представлены тромбозами (100%), кровотечения не были зафиксированы. В 1-й гр. развилось в 4,5 раза больше осложнений, чем во 2-й гр. ($p=0,0098$). Все тромбозы в 1-й гр. были статистически достоверно ассоциированы с применением транексамовой кислоты ($p=0,038$), и их частота была в 2,2 раза выше, чем во 2-й гр. ($p=0,023$). Это свидетельствует о важности временного интервала между назначением гемостатической и антикоагулянтной профилактики.

У пациентов 1-й гр. мужского пола с состоявшимся тромбозом статистически достоверных различий между исходными показателями коагулограммы и тромбозами выявлено не было. В 1-й гр. у женщин риск тромбозов повышали исходно низкий уровень международного нормализованного отношения ($OP=13,333$; $ДИ=4,49-39,591$; $p=0,00032$) и активированного частичного тромбопластинового времени ($OP=5,8$; $ДИ=1,357-24,796$; $p=0,037$). Риск кровотечений в 1-й гр. среди мужчин и женщин увеличивался при повышенном дооперационном уровне активированного частичного тромбопластинового времени ($OP=18$; $ДИ=2,679-120,922$; $p=0,0012$ и $OP=28$; $ДИ=3,426-228,831$; $p=0,00022$ соответственно), а отдельно

для женщин — при сниженном содержании фибриногена (ОР=23,25; ДИ=3,117–173,423; $p=0,00065$) и тромбоцитов (ОР=10,2; ДИ=1,805–57,619; $p=0,038$). Во 2-й гр. у пациентов с развившимся тромбозом, как мужского, так и женского пола, статистически достоверной разницы между исходными показателями коагулограммы и случаями тромбозов зафиксировано не было.

Заключение

После эндопротезирования в раннем послеоперационном периоде развилось 27 (10,67%) тромбозов и кровотечений, причем в первой группе — 22 (81,48%) осложнения (временной интервал ≤ 17 ч), во второй группе — 5 (18,52%) осложнений тромботического характера (временной интервал 18–24 ч). В первой группе все тромбозы ($n=11$; 50%) были статистически достоверно ассоциированы с использованием

транексамовой кислоты, и их было в 2,2 раза больше, чем во второй группе. На развитие тромбозов у пациенток женского пола в первой группе влиял низкий дооперационный уровень международного нормализованного отношения и активированного частичного тромбопластинового времени. На развитие кровотечений в первой группе у мужчин влиял уровень активированного частичного тромбопластинового времени выше нормы до операции, а у женщин — повышенный уровень активированного частичного тромбопластинового времени и сниженный уровень фибриногена и тромбоцитов до операции. Для минимизации частоты развития тромбгеморрагических осложнений в раннем послеоперационном периоде, при наличии обозначенных выше факторов следует по возможности избегать назначения транексамовой кислоты и соблюдать временной интервал не менее 18-ти ч.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Божкова С.А., Касимова А.Р., Накопия В.Б., Корнилов Н.Н. Все ли мы знаем о профилактике венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений после больших ортопедических операций? *Травматология и ортопедия России*. 2018;24(1):129–143. [Bozhkova S.A., Kasimova A.R., Nakopiya V.B., Kornilov N.N. Vse li my znamo o profilaktike venoznykh tromboembolicheskikh oslozhnenij posle bol'shikh ortopedicheskikh operacij? [Do we know all about prevention of venous thromboembolism after major orthopedic surgery?]. *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2018;24(1):129–143. (In Russian)]. DOI: 10.21823/2311-2905-2018-24-1-129-143.
2. Вебер Е.В., Воронцова Т.Н., Богопольская А.С., Безгодков Ю.А. Маршрутизация взрослых пациентов с патологией тазобедренного и коленного суставов. *Современные проблемы науки и образования*. 2017;(2). [Veber E.V., Voroncova T.N., Bogopol'skaya A.S., Bezgodkov Yu.A. Marshrutizatsiya vzroslykh pacientov s patologiej tazobedrennogo i kolennogo sustavov [Routing of adult patients with hip and knee pathology]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya [Modern problems of science and education]*. 2017;(2). (In Russian)]. URL: <https://science-education.ru>
3. Ершов Д.С., Копенкин С.С., Скороглазов А.В. Профилактика и лечение тромбозов глубоких вен нижних конечностей при эндопротезировании тазобедренного сустава (обзор литературы). *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2015;(3):14–19. [Ershov D.S., Kopenkin S.S., Skoroglyadov A.V. Profilaktika i lechenie trombozov glubokih ven nizhnih konechnostej pri endoprotezirovanii tazobedrennogo sustava (obzor literatury) [Prophylaxis and treatment of deep vein thrombosis of lower extremities at total hip replacement: a literature review]. *Bulletin of the Russian State Medical University*. 2015;(3):14–19. (In Russian)].
4. Зиятдинов Б.Г., Ахтямов И.Ф., Садыков Р.И. Современные возможности профилактики тромбозов и тромбоэмболических осложнений при эндопротезировании крупных суставов нижних конечностей. *Практическая медицина*. 2015;4–1(89):66–70. [Ziatdinov B.G., Ahtyamov I.F., Sadykov R.I. Sovremennye vozmozhnosti profilaktiki tromboembolicheskikh oslozhnenij pri endoprotezirovanii krupnykh sustavov nizhnih konechnostej [Modern facilities of thromboembolic complications prevention at the replacement of lower extremities large joints]. *Practical medicine*. 2015;4–1(89):66–70. (In Russian)].
5. Накопия В.Б., Корнилов Н.Н., Божкова С.А., Каземирский А.В., Гончаров М.Ю. Скрытая кровопотеря после тотального эндопротезирования коленного сустава на фоне комплексной антикоагулянтной тромбопрофилактики. *Современные проблемы науки и образования*. 2017;6. [Nakopiya V.B., Kornilov N.N., Bozhkova S.A., Kazemirskiy A.V.,

- Goncharov M.Yu. Skrytaya krvopoterya posle total'nogo endoprotezirovaniya kolennogo sustava na fone kompleksnoj antikoagulyantnoj tromboprofilaktiki [Hidden blood loss after total knee arthroplasty with complex thromboprophylaxis]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya [Modern problems of science and education]*. 2017;6. (In Russian). DOI: 10.17513/spno.27272. URL: <https://science-education.ru>
6. *Регистр лекарственных средств. Энциклопедия лекарств [Registr lekarstvennykh sredstv. Enciklopediya lekarstv [Register of medicines of Russia. Encyclopedia of drugs]*. (In Russian).
 7. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике ВТЭО. *Флебология*. 2015;9(4(2)):2–52. [Rossijskie klinicheskie rekomendacii po diagnostike, lecheniyu i profilaktike VTEO. *Phlebology*. 2015;9(4(2)):2–52. (In Russian)].
 8. Российские клинические рекомендации «Профилактика венозных тромбоэмболических осложнений в травматологии и ортопедии». *Травматология и ортопедия России*. 2012;1(прил.):2–24. [Rossijskie klinicheskie rekomendacii “Profilaktika venoznyh tromboembolicheskikh oslozhenij v travmatologii i ortopedii” [Russian clinical guidelines “Prevention of venous thromboembolic complications in traumatology and orthopedics”]. *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2012;1(suppl.):2–24. (In Russian)].
 9. Хело М.Д., Ахтямов И.Ф., Абдуллах А.М., Саид Ф.М. Лечение гонартроза — современные тенденции и проблемные вопросы. *Практическая медицина*. 2018;16(7–1):48–53. [Helo M.J., Akhtiamov I.F., Abdullah A.M., Said F.M. Lechenie gonartroza — sovremennye tendencii i problemnye voprosy. *Prakticheskaya medicina*. 2018;16(7–1):48–53. (In Russian)]. DOI: 10.32000/2072-1757-2018-16-7-48-53.
 10. Leitner L., Türk S., Heidinger M., Stöckl B., Posch F., Maurer-Ertl W., Leithner A., Sadoghi P. Trends and economic impact of hip and knee arthroplasty in Central Europe: Findings from the Austrian National Database. *Scientific reports*. 2018;8(1):4707. DOI: 10.1038/s41598-018-23266-w.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Головко Лилия Сергеевна*, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: liliya_s_golovko@mail.ru

Сафроненко Андрей Владимирович, д.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: andrejsaf@mail.ru

Макляков Юрий Степанович, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: maklus005@gmail.com

Ганцгорн Елена Владимировна, к.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: gantsgorn@inbox.ru

Сухорукова Наталия Владимировна, к.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: natasuh77@mail.ru

Каплиев Андрей Викторович, к.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: kapandr81@yandex.ru

Liliya S. Golovko*, Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: liliya_s_golovko@mail.ru

Andrey V. Safronenko, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: andrejsaf@mail.ru

Yuri S. Maklyakov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: maklus005@gmail.com

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

Natalya V. Sukhorukova, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: natasuh77@mail.ru

Andrey V. Kapliev, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: kapandr81@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ТЕХНОЛОГИЯ ПОВЫШЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РЕЗЕРВОВ ОРГАНИЗМА НА ОСНОВЕ БИОАКУСТИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

С.П. Драган*, С.М. Разинкин, Г.Г. Ерофеев

ФГБУ «Государственный научный центр РФ — Федеральный медицинский биофизический центр
имени А.И. Бурназяна» ФМБА России
123182, Российская Федерация, Москва, ул. Живописная, 46

Одним из перспективных подходов к повышению функциональных резервов организма человека является технология, основанная на воздействии низкочастотных колебаний на дыхательную систему. Для реализации такой технологии необходимо обосновать оптимальные режимы биоакустической стимуляции дыхательной системы. Поэтому целью проведенного исследования являлось теоретико-экспериментальное обоснование технологии повышения функциональных резервов организма на основе биоакустической стимуляции дыхательной системы. Измерения акустического импеданса осуществляли на полигармоническом звуковом сигнале в диапазоне частот от 3-х до 51-го Гц с шагом 3 Гц на всех трех фазах дыхания: полный вдох с задержкой дыхания, глубокий выдох с задержкой дыхания и свободное носовое поверхностное дыхание без задержки. После определения резонансных частот дыхательного тракта в течение двух недель проведены шесть сеансов биоакустической стимуляции на группе из 20-ти испытуемых, включая плацебо-воздействие. В группе воздействия уровень звукового давления составлял 130 дБ, а в контрольной группе — 60 дБ, что ниже порога слышимости на этих частотах. Шестикратное воздействие сканирующим тональным сигналом с уровнем звукового давления 130 дБ в диапазоне частот 22–36 Гц привело к увеличению резонансной частоты дыхательной системы, снижению коэффициента поглощения звуковых колебаний дыхательной системой и увеличению сопротивления дыхательной системы звуковой волне. Эти эффекты объясняются тем, что в результате воздействия произошло открытие резервных альвеол и увеличение площади поперечного сечения альвеолярных ходов и дыхательных бронхиол. Анализ результатов экспериментов в обеих группах в динамике шести сеансов стимуляции свидетельствует о том, что их значения для контрольной группы испытуемых практически не изменялись на всех сроках наблюдения. В то время как аналогичные показатели в группе воздействия имеют существенное отличие от фоновых значений. Показано, что для повышения функциональных резервов организма можно ограничиться двумя процедурами биоакустической стимуляции.

Ключевые слова: функциональные резервы организма, дыхательная система, биоакустическая стимуляция, резервы дыхания, жизненная емкость легких

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Драган С.П., Разинкин С.М., Ерофеев Г.Г. Технология повышения функциональных резервов организма на основе биоакустической стимуляции дыхательной системы. *Биомедицина*. 2021;17(3):39–47. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-39-47>

Поступила 18.01.2021

Принята после доработки 05.04.2021

Опубликована 10.09.2021

A TECHNOLOGY FOR INCREASING THE FUNCTIONAL RESERVES OF THE BODY BASED ON BIOACOUSTIC STIMULATION OF THE RESPIRATORY SYSTEM

Sergey P. Dragan*, Sergey M. Razinkin, Gennadiy G. Erofeev

State Scientific Center of the Russian Federation — Burnazyan Federal Medical Biophysical Center
of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
123182, Russian Federation, Moscow, Zhivopisnaya Str., 46

A technology based on the effect of low-frequency vibrations on the respiratory system is a promising approach to increasing the functional reserves of the human body. To implement such a technology, it is necessary to justify the optimal modes of bioacoustic stimulation of the respiratory system. Therefore, the aim of the study was a theoretical and experimental justification of the technology to increase the functional reserves of the body based on bioacoustic stimulation of the respiratory system. Acoustic impedance was measured on a polyharmonic sound signal in the frequency range from 3 Hz to 51 Hz with a step of 3 Hz in all three phases of respiration: a full breath with a breath hold, a deep breath with a breath hold and free nasal surface breathing without a delay. After determining the resonant frequencies of the respiratory tract for two weeks, six sessions of bioacoustic stimulation were conducted on a group of 20 testers, including placebo exposure. In the exposure group, the sound pressure level was 130 dB, and in the control group - 60 dB, which is below the audibility threshold at these frequencies. Six-fold exposure to a scanning tone signal with a sound pressure level of 130 dB led to an increase in the resonant frequency of the respiratory system, a decrease in the absorption coefficient of sound vibrations by the respiratory system, and an increase in the resistance of the respiratory system to the sound wave. These effects can be explained by the fact that, as a result of exposure, reserve alveoli were discovered and the cross-sectional area of the alveolar passages and respiratory bronchioles increased. An analysis of the results of experiments in both groups in the dynamics of six stimulation sessions suggests that their values for the control group of testers practically did not change at all periods of observation. At the same time, similar indicators in the exposure group have a significant difference from the background values. It was shown that, in order to increase the functional reserves of the body, two bioacoustic stimulation treatments can be sufficient.

Key words: functional reserves of the body, respiratory system, bioacoustic stimulation, respiratory reserves, lung capacity

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

For citation: Dragan S.P., Razinkin S.M., Erofeev G.G. A Technology for Increasing the Functional Reserves of the Body Based on Bioacoustic Stimulation of the Respiratory System. *Journal Biomed.* 2021;17(3):39–47. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-39-47>

Submitted 18.01.2021

Revised 05.04.2021

Published 10.09.2021

Введение

Одним из актуальных направлений спортивной медицины в настоящее время является повышение функциональных резервов организма спортсмена на основе нелекарственных (немедикаментозных) технологий [1–5]. К их числу относятся технологии, основанные на воздействии низкочастотных колебаний на дыхательную систе-

му человека [6–9]. Анализ результатов экспериментальных исследований дает основание предположить, что стимуляция дыхательной системы низкочастотными акустическими колебаниями может привести к увеличению жизненной ёмкости легких, улучшению газообмена и, соответственно, к увеличению выносливости и работоспособности [10–13].

Реакции дыхательной системы на низкочастотные акустические воздействия изменяются в зависимости от их частоты и интенсивности, а также зависят от антропометрических характеристик человека [10, 14]. К респираторным реакциям относят вибрацию грудной клетки и диафрагмы с основной частотой воздействия, изменение глубины и ритма дыхания, прекращение экскурсии грудной клетки без нарушения газообмена в легких. Последний эффект, в частности, находит практическое применение в травматологии, когда к пациенту подключают аппарат искусственного дыхания, работающего с частотой (индивидуальной для каждого пациента), обеспечивающей полноценную вентиляцию легких без экскурсии грудной клетки, что позволяет купировать болевой синдром при наличии переломов ребер.

Целью исследования являлось теоретико-экспериментальное обоснование технологии повышения функциональных резервов организма на основе биоакустической стимуляции дыхательной системы.

Материалы и методы

Метод биоакустической стимуляции дыхательной системы основан на эффекте открытия резервных альвеол и увеличении площади поперечного сечения альвеолярных ходов и дыхательных бронхиол, т. е. увеличении жизненной емкости легких [20, 21]. При воздействии высокоинтенсивными звуками низкой частоты на резонансных частотах, где сопротивление минимально, давление в падающей волне с небольшим затуханием переносится по воздушным каналам на всю глубину воздушной полости. При увеличении давления в альвеолах повышается градиент между плевральной полостью и легкими. В плевральной полости давление на 3–4 мм. рт. ст. ниже, чем в легких, что соответствует 400–533 Па. Отрицательное давление в плевральной по-

лости поддерживается на протяжении всего вдоха. Так, при воздействии падающей волны на входе респираторного тракта 130 дБ (63,2 Па) изменение градиента давления между легкими и плевральной полостью составит $\approx 10\%$, следовательно, можно ожидать пропорционального увеличения жизненной ёмкости легких.

Для технической реализации метода изготовлен аппаратно-программный комплекс биоакустической стимуляции дыхательной системы (АПК БСДС) [17–20]. Измерение акустического импеданса позволяет определить индивидуальные резонансные частоты и коэффициенты поглощения звука в широком диапазоне частот. Биоакустическую стимуляцию осуществляют сканирующим сигналом в диапазоне частот 22–36 Гц на уровне ± 3 дБ от максимального значения коэффициента поглощения [21–24]. На фазе вдоха частота снижалась, а на фазе выдоха — повышалась. Ритм дыхания спортсмена был синхронизирован со скоростью сканирования и составлял 2–4 с.

Испытатели-добровольцы, принявшие участие в исследовании, были ознакомлены с условиями проведения процедуры, одобренной биоэтической комиссией ГНЦ РФ — ФМБЦ им. А.И.Бурназяна ФМБА России, и дали письменное информированное добровольное согласие.

Методика измерения состояла в выполнении следующих процедур. При измерениях на полном вдохе испытуемый берет загубник в рот и при этом контролирует положение уголков губ, чтобы плотно прилегали к загубнику и обеспечивали герметичность соединения, язык должен находиться под загубником так, чтобы не перекрывать выходное сечение загубника. Спортсмен делает плавный полный вдох, при этом контролирует состояние грудных и голосовых мышц с тем, чтобы был обеспечен доступ звукового сигнала в трахею. После полного вдоха задерживает дыхание на 15 с, в течение которых

осуществляется измерение. Затем процедура измерения с задержкой дыхания на 15-й секунде после глубокого плавного выдоха повторяется. При этом также контролируется состояние грудных и голосовых мышц с тем, чтобы был обеспечен доступ звукового сигнала в трахею.

Далее спортсмен дышит носом в спокойном режиме поверхностным дыханием. Длительность процедуры составляла также 15 с. По окончании процедуры вся информация записывается и сохраняется в виде файла в базе данных. Множество акустических характеристик дыхательного тракта включает 6 показателей [21–24]:

частота резонанса — f_0 (определяется по пересечению графиком реактанса линии $Y=0$);

коэффициент поглощения на частоте f_0 — $\alpha(f_0)$;

резистанс (сопротивление) на частоте f_0 — $R(f_0)$;

частота максимума коэффициента поглощения — $f(\alpha_{\max})$;

максимальное поглощение — α_{\max} ;

резистанс на частоте максимума коэффициента поглощения $R(\alpha_{\max})$.

Статистические методы анализа включали методы описательной статистики, метод проверки соответствия теоретического и экспериментального законов распределения на основе критерия хи-квадрат, методы статистической проверки гипотез о равенстве средних арифметических значений показателей в сопоставляемых группах, двухфакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями.

Результаты и их обсуждение

При помощи разработанного АПК БСДС проведены измерения акустического импеданса. Измерения осуществляли на полигармоническом сигнале в диапазоне частот от 3-х до 51-го Гц с шагом 3 Гц на всех трех фазах дыхания: полный вдох с задержкой дыхания, глубокий выдох с задержкой ды-

хания и свободное носовое поверхностное дыхание без задержки.

После определения резонансных частот дыхательного тракта были проведены в течение двух недель шесть сеансов биоакустической стимуляции на группе из 20-ти испытуемых, включая ложное воздействие, контрольная группа также включала 20 испытуемых. В исследовании участвовали 20 спортсменов-мужчин (возраст $24,3 \pm 0,8$ лет), занимающиеся лыжными видами спорта (лыжные гонки, биатлон, лыжероллеры) и отвечающие следующим критериям: спортивный разряд не ниже I взрослого; отсутствие медицинских противопоказаний к участию в клинических испытаниях; заключившие письменное информированное согласие на участие в клинических испытаниях, а также согласие на все ограничения, налагаемые в ходе их проведения.

Мастеров спорта было 2 человека, КМС — 4 человека, имевших I разряд — 14 человек.

Средние значения роста и веса в группе воздействия и контроля составили соответственно: $175,80 \pm 2,47$ см; $185,6 \pm 1,79$ см; $75,58 \pm 3,89$ кг; $76,47 \pm 1,35$ кг.

Каждый сеанс состоял из трех трехминутных воздействий. Между каждым воздействием был перерыв в течение 1 мин. Вся продолжительность процедуры за один сеанс составляла 11 мин. Сеансы биоакустической стимуляции проводились через день. В группе воздействия уровень звукового давления (УЗД) составлял 130 дБ, а в контрольной группе (в группе с ложным воздействием) УЗД=60 дБ, что ниже порога слышимости.

Результаты измерений акустических показателей дыхательного тракта у испытуемых контрольной группы и группы воздействия сопоставили между собой. На рисунке приведены все результаты измерений резонансных частот на фазах вдоха, выдоха и при свободном дыхании обеих групп испытуемых.

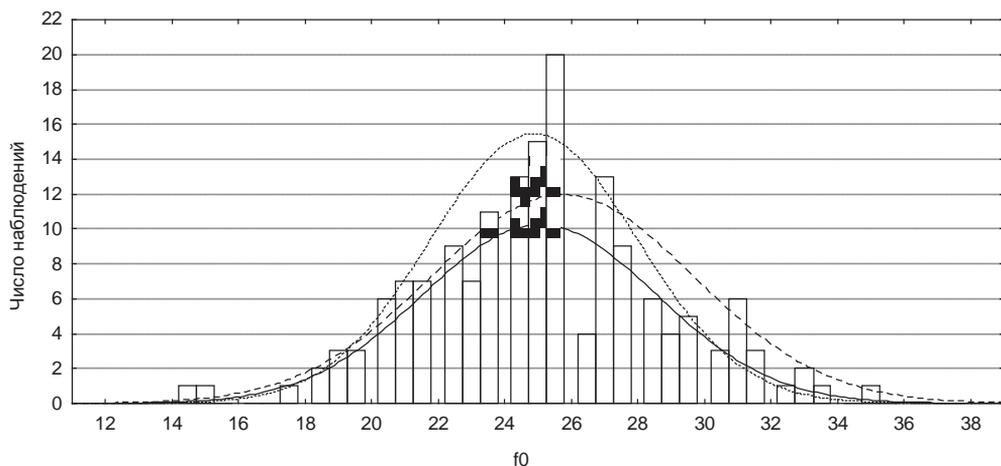


Рис. Гистограмма распределения резонансной частоты в группе воздействия и контроля для разных фаз дыхания (по оси абсцисс — резонансная частота f_0 , по оси ординат — число наблюдений; косая штриховка слева направо, снизу вверх — режим вдоха, косая штриховка справа налево, снизу вверх — режим выдоха, горизонтальная штриховка — режим свободного дыхания; сплошная линия плотности вероятности соответствует вдоху, пунктирная — выдоху, точечная — свободному дыханию).

Fig. A histogram of the distribution of the resonant frequency in the exposure and control group for different phases of respiration (the abscissa shows the resonance frequency f_0 , the ordinate shows the number of observations; oblique hatching from left to right, bottom-up — inspiratory mode, oblique hatching from right to left, bottom up — exhalation mode, horizontal hatching — free breathing mode; a solid line of probability density corresponds to inhalation, a dashed line — to exhalation, dotted — to free breathing).

С помощью критерия χ -квадрат показано, что законы распределения всех шести регистрируемых показателей соответствуют нормальному распределению. Поэтому проверка на статистическую значимость различий между зарегистрированными показателями для различных фаз дыхания в группах контроля и воздействия осуществлялась с помощью критерия Стьюдента.

В группах воздействия и контроля статистически достоверной разницы между средними значениями соответствующих показателей в разных фазах режима дыхания не обнаружено (при уровне значимости $p=0,05$).

Результаты статистического сопоставления значений акустических показателей дыхательного тракта у испытуемых свидетельствуют о том, что в группе воздействия биоакустической стимуляции они достоверно изменились по сравнению с контрольной группой.

Шестикратное воздействие сканирующим тональным сигналом с уровнем звукового давления 130 дБ в диапазоне частот 22–36 Гц привело к следующим изменениям акустических показателей дыхательного тракта у испытуемых-добровольцев: резонансная частота увеличилась; коэффициент поглощения снизился; сопротивление звуковой волне увеличилось.

В качестве акустических показателей дыхательного тракта использованы частотно-зависимые компоненты импеданса, т. е. комплексное акустическое сопротивление. Импеданс равен отношению звукового давления к колебательной скорости частиц среды (воздуха) с учетом фазовых соотношений между ними. Увеличение активной компоненты импеданса, т. е. сопротивления звуковой волне в дыхательном тракте происходит при снижении величины колебательной скорости частиц среды и сохранении амплитуды звукового давления.

Колебательная скорость в дыхательном тракте уменьшается при увеличении площади поперечного сечения всех воздухоносных путей.

Изложенное позволяет предположить, что в результате воздействия произошло открытие резервных альвеол и увеличение площади поперечного сечения альвеолярных ходов и дыхательных бронхиол (17–22-й порядок ветвления).

Анализ шести показателей у испытуемых обеих групп в динамике шестикратного истинного и ложного воздействия, проведенный с помощью двухфакторного (факторы «воздействие» и «время») дисперсионного анализа с повторными измерениями, свидетельствует о том, что их значения для контрольной группы испытуемых практически не изменялись на всех сроках наблюдения. В то время как аналогичные показатели в группе воздействия имеют существенное отличие от фоновых значений: максимальные отличия между контрольной группой и группой воздействия зарегистрированы на 2-й, 3-й и 4-й сроках наблюдения (перед 2-м, 3-м и 4-м сеансом стимуляции соответственно).

Это обстоятельство свидетельствует о том, что последующие воздействия (с 3-го по 6-е) нецелесообразны. В связи с этим проведен статистический анализ изменения акустических показателей дыхательной системы в динамике наблюдений. Сопоставлялись результаты 1-го дня с 2, 3, ..., 6-м; затем 2-го дня с 3, ..., 6-м и т. д. При этом в качестве фонового воздействия использованы объединенные данные контрольной группы и группы воздействия. В результате анализа определено, что при втором обследовании (после первого воздействия) частота увеличилась с 23,6 до 27,4 Гц, резистанс (сопротивление) увеличился с 4,2 до 6,0, а коэффициент поглощения снизился с 0,62 до 0,53. Эти

изменения оказались статистически достоверными (при уровне значимости $p=0,05$).

Сопоставление фоновых значений (первое наблюдение объединенной группы) со значениями, зарегистрированными в последующие сроки у группы воздействия, имеет такую же тенденцию: частота и сопротивление увеличены, а коэффициент поглощения снижен. Эти изменения также оказались статистически достоверными.

Сопоставление акустических показателей дыхательного тракта у испытуемых группы воздействия на второе обследование и последующие не выявило статистически достоверных изменений. С целью достижения кратковременного эффекта, вместо шести процедур биоакустической стимуляции можно ограничиться двумя процедурами.

Заключение

Таким образом, применение шестикратного биоакустического воздействия сканирующим тональным сигналом с уровнем звукового давления 130 дБ в диапазоне частот 22–36 Гц привело к следующим изменениям акустических показателей дыхательного тракта у испытуемых-добровольцев: резонансная частота увеличилась; коэффициент поглощения снизился; сопротивление увеличилось. Это может свидетельствовать о том, что в результате воздействия произошло открытие резервных альвеол и увеличение площади поперечного сечения альвеолярных ходов и дыхательных бронхиол (17–22-й порядок ветвления). Кроме того, для достижения кратковременного эффекта, вместо шести процедур биоакустической стимуляции можно ограничиться двумя процедурами. Стимуляция дыхательной системы низкочастотными акустическими колебаниями может быть полезна для восстановительной медицины после респираторных заболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Богомолов А.В., Драган С.П. Математическое обоснование акустического метода измерения импеданса дыхательного тракта. *Доклады Академии наук*. 2015;464(5):623. [Bogomolov A.V., Dragan S.P. Matematicheskoye obosnovaniye akusticheskogo metoda izmereniya impedansa dykhatel'nogo trakta [The mathematical justification of the acoustic method of measuring the impedance of the respiratory tract]. *Doklady Akademii nauk [Reports of the Academy of Sciences]*. 2015;464(5):623. (In Russian)].
2. Богомолов А.В., Драган С.П., Ерофеев Г.Г. Математическая модель поглощения звука лёгкими при акустической стимуляции дыхательной системы. *Доклады Академии наук*. 2019;487(1):97–101. [Bogomolov A.V., Dragan S.P., Yerofeyev G.G. Matematicheskaya model' pogloshcheniya zvuka logkimi pri akusticheskoy stimulyatsii dykhatel'noy sistemy [Mathematical model of lung sound absorption during acoustic stimulation of the respiratory system]. *Doklady Akademii nauk [Reports of the Academy of Sciences]*. 2019;487(1):97–101. (In Russian)].
3. Богомолов А.В., Зинкин В.Н., Драган С.П., Кукушкин Ю.А., Солдагов С.К., Шишов А.А. Способ эргономической квалитетрии средств индивидуальной защиты человека от воздушной акустической вибрации. Патент на изобретение RU № 2521849, 29.05.2013. [Bogomolov A.V., Zinkin V.N., Dragan S.P., Kukushkin Yu.A., Soldatov S.K., Shishov A.A. *Sposob ergonomicheskoy kvalimetrii sredstv individual'noy zashchity cheloveka ot vozduшной акустической вибрации*. Патент на изобретение RU № 2521849, 29.05.2013. (In Russian)].
4. Гридин Л.А. Современные представления о физиологических и лечебно-профилактических эффектах действия гипоксии и гиперкапнии. *Медицина*. 2016;4(3(15)):45–68. [Gridin L.A. *Sovremennyye predstavleniya o fiziologicheskikh i lechebno-profilakticheskikh effektakh deystviya gipoksii i giperkapnii* [Modern views on the physiological and therapeutic-prophylactic effects of hypoxia and hypercapnia]. *Meditsina*. 2016;4(3(15)):45–68. (In Russian)].
5. Гридин Л.А., Богомолов А.В., Кукушкин Ю.А. Методологические основы исследования физической работоспособности человека. *Актуальные проблемы физической подготовки силовых структур*. 2011;1:10–19. [Gridin L.A., Bogomolov A.V., Kukushkin Yu.A. *Metodologicheskiye osnovy issledovaniya fizicheskoy rabotosposobnosti cheloveka* [Methodological foundations of the study of human physical performance]. *Aktual'nyye problemy fizicheskoy podgotovki silovykh struktur* [Actual problems of physical training of power structures]. 2011;1:10–19. (In Russian)].
6. Дворников М.В., Кленков Р.Р. Пути использования скрининг-диагностики для оценки функционального здоровья лиц экстремальных профессий. *Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии*. 2017;7:44–53. [Dvornikov M.V., Klenkov R.R. *Puti ispol'zovaniya skringing-dagnostiki dlya otsenki funktsional'nogo zdorov'ya lits ekstremal'nykh professiy* [Ways to use screening diagnostics for assessing the functional health of people in extreme professions]. *Bulletin of neurology, psychiatry and neurosurgery*. 2017;7:44–53. (In Russian)].
7. Драган С.П., Богомолов А.В., Ерофеев Г.Г. *Способ диагностики состояния дыхательного тракта*. Патент на изобретение RU № 2572750, 20.01.2016. [Dragan S.P., Bogomolov A.V., Yerofeyev G.G. *Sposob diagnostiki sostoyaniya dykhatel'nogo trakta* [A method for diagnosing the condition of the respiratory tract]. *Invention patent* RU No. 2572750, 20.01.2016. (In Russian)].
8. Драган С.П., Богомолов А.В., Ерофеев Г.Г. *Устройство для импедансных исследований функции внешнего дыхания*. Патент на полезную модель RU № 14848, 10.12.2014. [Dragan S.P., Bogomolov A.V., Yerofeyev G.G. *Ustroystvo dlya impedansnykh issledovaniy funktsii vneshnego dykhaniya*. Патент на полезную модель RU № 14848, 10.12.2014. (In Russian)].
9. Драган С.П., Богомолов А.В., Разинкин С.М., Корчажкина Н.Б., Ерофеев Г.Г., Ивашин В.А. *Способ повышения функциональных резервов организма*. Патент на изобретение RU № 2587970, 27.01.2015. [Dragan S.P., Bogomolov A.V., Razinkin S.M., Korchazhkina N.B., Yerofeyev G.G., Ivashin V.A. *Sposob povysheniya funktsional'nykh rezervov organizma* [A way to increase the functional reserves of the body]. *Invention patent* RU No. 2587970, 27.01.2015. (In Russian)].
10. Драган С.П., Богомолов А.В., Разинкин С.М., Корчажкина Н.Б., Ерофеев Г.Г., Ивашин В.А. *Устройство для звуковой стимуляции дыхательной системы*. Патент на полезную модель RU № 154260, 27.01.2015. [Dragan S.P., Bogomolov A.V., Razinkin S.M., Korchazhkina N.B., Yerofeyev G.G., Ivashin V.A. *Ustroystvo dlya zvukovoy stimulyatsii dykhatel'noy sistemy* [Device for sound stimulation of the respiratory system]. *Utility model patent* RU No. 154260, 27.01.2015. (In Russian)].
11. Драган С.П., Ерофеев Г.Г., Богомолов А.В., Шулепов П.А. Акустическая импедансометрия в задачах определения резонансных характеристик респираторного тракта для биоакустической стимуляции лёгких спортсменов. *Медицинская наука и образование Урала*. 2018;19(3(95)):50–55. [Dragan S.P., Yerofeyev G.G., Bogomolov A.V., Shulepov P.A. *Akusticheskaya impedansometriya*

- v zadachakh opredeleniya rezonansnykh kharakteristik respiratornogo trakta dlya bioakusticheskoy stimulyatsii legkikh sportsmenov [Acoustic impedance in determining the resonance characteristics of the respiratory tract for bioacoustic stimulation of lung athletes]. *Meditsinskaya nauka i obrazovaniye Urala [Medical science and education of the Urals]*. 2018;19(3(95)):50–55. (In Russian)].
12. Дьяченко А.И., Миняев В.И., Миняева А.В. Методы исследования роли торакального и абдоминального компонентов системы дыхания и вентиляции легких. *Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология*. 2007;6:15–21. [D'yachenko A.I., Minyayev V.I., Minyayeva A.V. Metody issledovaniya roli torakal'nogo i abdominal'nogo komponentov sistemy dykhaniya i ventilyatsii legkikh [Research methods for the role of the thoracic and abdominal components of the respiratory and ventilation systems]. *Vestnik Tverskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya i ekologiya [Bulletin of Tver State University. Series: Biology and Ecology]*. 2007;6:15–21. (In Russian)].
 13. Дьяченко А.И., Михайловская А.Н. Респираторная акустика (обзор). *Труды ИОФАН*. 2012;68:136–181. [D'yachenko A.I., Mikhaylovskaya A.N. Respiratornaya akustika (obzor) [Respiratory acoustics (review)]. *Trudy IOFAN [Proceedings of the Institute of General Physics named after A.M. Prokhorov of the RAS]*. 2012;68:136–181. (In Russian)].
 14. Исупов И.Б., Сягайло Ю.А., Мазембах А.А. Функциональные характеристики респираторной системы людей различного возраста. *Природные системы и ресурсы*. 2018;8(4):15–20. [Isupov I.B., Syagaylo Yu.A., Mazembakh A.A. Funktsional'nyye kharakteristiki respiratornoy sistemy lyudey razlichnogo vozrasta [Functional characteristics of the respiratory system of people of different ages]. *Prirodnyye sistemy i resursy [Natural systems and resources]*. 2018;8(4):15–20. (In Russian)].
 15. Кондаков Н.С., Авдюшенко С.А. Диагностика физиологических резервов для увеличения эффективности и безопасности тренировочного процесса спортсменов. *Известия Российской Военно-медицинской академии*. 2019;38(S3):85–88. [Kondakov N.S., Avdyushenko S.A. Diagnostika fiziologicheskikh rezervov dlya uvelicheniya effektivnosti i bezopasnosti trenirovochnogo protsesssa sportsmenov [Diagnosis of physiological reserves to increase the efficiency and safety of the training process of athletes]. *Izvestiya Rossiyskoy Voyenno-meditsinskoy akademii [Bulletin of the Russian Military Medical Academy]*. 2019;38(S3):85–88. (In Russian)].
 16. Разинкин С.М. Адаптационный и функциональный резервы психофизиологического состояния организма. *Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии*. 2009(11):10–15. [Razinkin S.M. Adaptatsionnyy i funktsional'nyy rezervy psikhofiziologicheskogo sostoyaniya organizma [Adaptation and functional reserves of the psychophysiological state of the body]. *Bulletin of neurology, psychiatry and neurosurgery*. 2009(11):10–15. (In Russian)].
 17. Самойлов О.В., Пономаренко Г.Н., Енин Л.Д. Низкочастотная биоакустика. СПб: Реверс, 1994:215. [Samoylov O.V., Ponomarenko G.N., Yenin L.D. *Nizkochastotnaya bioakustika [Low frequency bioacoustics]*. Sankt-Peterburg: Revers Publ., 1994:215. (In Russian)].
 18. Уйба В.В., Котенко К.В., Степанов В.С. Биологическое действие инфразвука (гигиенические и медико-биологические аспекты). Под ред. акад. РАН Л.А. Ильина. М., 2012:384. [Uyba V.V., Kotenko K.V., Stepanov V.S. Biologicheskoye deystviye infrazvuka (gigienicheskie i mediko-biologicheskoye aspekty) [The biological effect of infrasound (hygienic and medico-biological aspects)]. Ed. by Acad. of RAS L.A. Il'ina. Moscow, 2012:384. (In Russian)].
 19. Ушаков И.Б., Богомолов А.В. Информатизация программ персонализированной адаптационной медицины. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2014;69(5–6):124–128. [Ushakov I.B., Bogomolov A.V. Informatizatsiya programm personifitsirovannoy adaptatsionnoy meditsiny [Informatization of personified adaptive medicine programs]. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk (Bulletin of RAMS)*. 2014;69(5–6):124–128. (In Russian)].
 20. Яцык В.З., Болотин А.Э., Парамзин В.Б., Паеусов С.А. Эффективность комплексного применения дыхательных упражнений в процессе развития выносливости у биатлонистов. *Физическая культура, спорт: наука и практика*. 2019(1):30–36. [Yatsyk V.Z., Bolotin A.E., Paramzin V.B., Payeusov S.A. Effektivnost' kompleksnogo primeneniya dykhatel'nykh upravzheniy v protsesse razvitiya vynoslivosti u biatlonistov [The effectiveness of the integrated use of breathing exercises in the development of endurance in biathletes]. *Fizicheskaya kul'tura, sport: nauka i praktika [Physical culture, sports: science and practice]*. 2019(1):30–36. (In Russian)].
 21. Beketova H.V., Savinova K.B., Dybohay O.D., Mishcherska H.D. The influence of the health saving technologies on the health of the children of the primary-school age. *Modern pediatrics*. 2018;8(96):17–21.
 22. Carley D.W., Applebaum R., Basner R.C., Onal E., Lopata M. Respiratory and arousal responses to acoustic stimulation. *Clinical Investigations*. 1997;112(6):1567–1571.
 23. Cohen A., Berstein A.D. Acoustic transmission of the respiratory system using speech stimulation. *IEEE Trans Biomed Eng*. 1991; 38(2):126–132.
 24. Dragan S.P., Bogomolov A.V. A method for acoustic impedance spectroscopy of the respiratory tract. *Biomedical Engineering*. 2016;49(5):278–282.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Драган Сергей Павлович*, д.т.н., ФГБУ
«Государственный научный центр РФ —
Федеральный медицинский биофизический
центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;
e-mail: s.p.dragan@rambler.ru

Разинкин Сергей Михайлович, д.м.н., проф.,
ФГБУ «Государственный научный центр РФ —
Федеральный медицинский биофизический
центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;
e-mail: razinkinsm@fmbcfmba.ru

Ерофеев Геннадий Григорьевич, к.м.н.,
ФГБУ «Государственный научный центр РФ —
Федеральный медицинский биофизический
центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;
e-mail: erofeevgg@fmbcfmba.ru

Sergey P. Dragan*, Dr. Sci. (Tech.), State Scientific
Center of the Russian Federation — Burnazyan
Federal Medical Biophysical Center of the Federal
Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: s.p.dragan@rambler.ru

Sergey M. Razinkin, Dr. Sci. (Med.), Prof., State
Scientific Center of the Russian Federation —
Burnazyan Federal Medical Biophysical Center
of the Federal Medical and Biological Agency of
Russia;
e-mail: razinkinsm@fmbcfmba.ru

Gennadiy G. Erofeev, Cand. Sci. (Med.), State
Scientific Center of the Russian Federation —
Burnazyan Federal Medical Biophysical Center
of the Federal Medical and Biological Agency of
Russia;
e-mail: erofeevgg@fmbcfmba.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-48-55>



КЛЕТочная ТЕРАПИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ЖКТ У БИОМОДЕЛИ С НПВС-ИНДУЦИРОВАННЫМ ЭНТЕРОКОЛИТОМ

Р.А. Клёсов^{1*}, О.И. Степанова¹, В.Н. Каркищенко¹, О.В. Баранова²

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

² ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр
“Лечебно-реабилитационный центр”» Минздрава России
125367, Российская Федерация, Москва, Ивановское ш., 3

Для клеточной терапии у крыс Wistar с НПВС-индуцированным декскетопрофеном хроническим энтероколитом ЖКТ внутрибрюшинно двукратно с интервалом 30 дней трансплантировали культивированную аллогенную суспензию клеток, состоящую из фракций мононуклеарных клеток (40 млн) и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (10 млн). Культивированные аллогенные фракции клеток костного мозга ускоряют процессы регенерации длительно незаживающих язв ЖКТ за счет сокращения сроков и выраженности воспалительной фазы и активизации регенераторной фазы язвенного процесса. Установлено, что одновременное введение исследуемых культивированных стволовых клеток может использоваться для лечения хронических, длительно незаживающих, трудно рубцующихся язвенно-некротических патологий ЖКТ.

Ключевые слова: аллогенные фракции клеток костного мозга, трансплантация, ЖКТ, НПВС, крысы

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Клёсов Р.А., Степанова О.И., Каркищенко В.Н., Баранова О.В. Клеточная терапия патологических повреждений ЖКТ у биомодели с НПВС-индуцированным энтероколитом. *Биомедицина*. 2021;17(3): 48–55. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-48-55>

Поступила 01.04.2021

Принята после доработки 23.07.2021

Опубликована 10.09.2021

CELL THERAPY OF PATHOLOGICAL GASTROINTESTINAL LESIONS IN MODELED NSAID-INDUCED ENTEROCOLITIS

Roman A. Klesov^{1,*}, Olga I. Stepanova¹, Vladislav N. Karkischenko¹, Oksana V. Baranova²

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

² National Medical Research Center “Treatment and Rehabilitation Center”
of the Ministry of Health Care of Russia
125367, Russian Federation, Moscow, Ivan’kovskoe Highway, 3

Wistar rats with NSAID-induced (dexketoprofen) chronic enterocolitis of the gastrointestinal tract were treated with a cultured allogeneic cell suspension consisting of mononuclear cells (40 millions) and multi-potent mesenchymal stromal cells (10 millions). The suspension was transplanted intraperitoneally, 2 times with an interval of 30 days. Cultured allogeneic fractions of bone marrow cells accelerate the regeneration of long-term non-healing gastrointestinal lesions by reducing the duration and severity of the inflammatory phase and activating the regenerative phase of the ulcerative process. It was found that the simultaneous ad-

ministration of the studied cultured stem cells can be used for the treatment of chronic, long-term non-healing, poorly-scarring ulcerative necrotic gastrointestinal pathologies.

Keywords: allogeneic fractions of bone marrow cells, transplantation, gastrointestinal tract, NSAIDs, rats

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

Fof citation: Klesov R.A., Stepanova O.I., Karkischenko V.N., Baranova O.V. Cell Therapy of Pathological Gastrointestinal Lesions in Modeled NSAID-Induced Enterocolitis. *Journal Biomed.* 2021;17(3):48–55. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-48-55>

Submitted 01.04.2021

Revised 23.07.2021

Published 10.09.2021

Введение

Наш предварительный опыт и данные немногочисленных литературных источников дают возможности повышать неспецифическую резистентность организма методами клеточной терапии и элементами клеточного метаболизма как способа лечения и профилактики заболеваний ЖКТ.

Для клеточной трансплантации используются гемопоэтическую или стромальную фракции клеток аутологичного костного мозга (КМ), которые содержат стволовые и прогениторные клетки [9]. Эффективность гемопоэтических клеток КМ обусловлена иммунорегуляторной активностью выделяемых ими биорегуляторных пептидов. Эффективность стромальной фракции клеток КМ обусловлена не только тем, что эти клетки секретируют широкий спектр цитокинов и ростстимулирующих факторов, но и тем, что, являясь предшественниками мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), они способны активно пролиферировать в культуре, дифференцироваться в мезенхимальные клетки других фенотипов и непосредственно участвовать в процессах восстановительной регенерации поврежденных тканей [6, 10]. Кроме того, известно, что ММСК КМ могут участвовать в регуляции дифференцировки Т-клеток, вызывают супрессию пролиферации эффекторных клеток (цитотоксических Т-лимфоцитов, натуральных киллеров), а также ограничивают дифференцировку дендритных клеток [7, 8], спо-

собствуя ингибированию системной воспалительной реакции.

На модели аутоиммунной длительно незаживающей язвы желудка на крысах изучены иммунопатологические механизмы развития хронической язвы в слизистой оболочке желудка с применением ММСК и мононуклеарных клеток (МНК) аутологичного костного мозга для ускоренной регенерации аутоиммунных длительно незаживающих язв ЖКТ (ДНЯ ЖКТ), выявлена предпочтительность (более высокая эффективность) ММСК. Установлено, что трансплантированные ММСК и МНК КМ обеспечивают более качественную и быструю регенерацию язв желудка за счет стимуляции неоангиогенеза и восстановления микроциркуляторного русла, улучшения процессов метаболической регуляции в системе «простагландины — циклические нуклеотиды», следствием чего становится ингибирование процессов усиленного апоптоза эпителиоцитов в слизистой оболочке желудка, и, как результат, повышение уровня противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови животных коррелирует со снижением активности апоптоза трансплантации ММСК и МНК КМ и может служить показателем качественной регенерации слизистой оболочки желудка, т.к. устраняются факторы прогрессирования деструктивно-язвенного процесса [1]. Установлен терапевтический потенциал трансплантированных ММСК при остром и хроническом поражении кишечника, ин-

дуцированном натрий декстран-сульфатом, в лечении воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) на крысах Wistar [2, 4].

Цель работы — трансплантация культивированных клеток аллогенного костного мозга разных фракций (МНК и ММСК) при одновременном их введении как новый метод терапии повреждений ЖКТ.

Материалы и методы

Работа выполнена на 50-ти крысах-самцах Wistar массой 250–300 г. Животные были получены из филиала «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России и отобраны в эксперимент методом рандомизации. Эксперименты 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.

При проведении экспериментальной клеточной терапии у животных с повреждениями ЖКТ готовили аллогенную суспензию клеток, состоящую из МНК и ММСК, которую трансплантировали двукратно с интервалом 30 дней животным экспериментальной группы внутрибрюшинно с одновременным введением в количестве по 40 млн МНК и по 10 млн ММСК (общая доза — 80 млн МНК и 20 млн ММСК), на 30-е и 60-е сут после моделирования язвенного энтероколита.

Для культивирования первичной аллогенной культуры клеток КМ использовали ростовую среду DMEM с NEPEP (Пан Эко), содержащую 10% бычьей эмбриональной сыворотки («HyClone», USA), 0,58 г/л глутамина, инсулин 0,4 мкМ, 0,25 мг/л гентамицина.

Для идентификации специфичности клеток в культуре ММСК КМ использовали иммуногистохимический метод выявления коллагена I типа. Технологию подсче-

та культивированных аллогенных клеток костного мозга, окрашенных 0,4% р-ром трипанового синего, в соответствии с протоколом, проводили на автоматическом счетчике Countess II® (США). С целью получения высокой терапевтической индукции регенерации повреждений ЖКТ использовались культивированные аллогенные клетки МНК и ММСК с 96% выживаемостью клеток.

На 30-е и 90-е сут после трансплантации клеток изучали динамику эффективности регенерации повреждений ЖКТ и осуществляли оценку эффективности клеточной терапии гистологическими методами. Гистологические исследования были проведены на парафиновых срезах. Образцы тканей ЖКТ (пищевода, желудка, 12-перстной кишки, тощей, фрагменты из отдела толстого кишечника) фиксировались в 10% р-ре формалина в течение 24 ч. Далее на санном микротоме получали срезы толщиной 5–6 мкм, которые помещали на предметные стекла и высушивали. После депарафинирования полученные срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Фазово-контрастную микроскопию материала проводили на микроскопе фирмы «NIKON» (Япония) с цифровым фотоаппаратом («OLYMPUS», Япония).

Результаты и их обсуждение

Для лечения хронического язвенного энтероколита была создана модель хронического НПВС-индуцированного язвенного энтероколита (декскетопрофеном) у лабораторных крыс Wistar и изучены патогенетические нарушения [3].

На 7-е сут после трансплантации культивированных аллогенных МНК и ММСК КМ была отмечена стабилизация массы тела экспериментальных животных. Через 45 дней после последнего одновременного введения двух фракций КМ (ММСК и МНК) масса тела экспериментальных животных стабильно нарастала

и составляла $311 \pm 2,4$ г, тогда как масса больных животных (без введения ККМ) в этот период составляла $236 \pm 2,0$ г.

На 30-е сут после трансплантации с одновременным введением ММСК и МНК отмечалось достоверное уменьшение язвенных дефектов. В контрольной группе дно язвы покрыто тонким некротическим слоем и диффузно инфильтрировано лейкоцитами, в подлежащем слое созревающая грануляционная ткань имела частично упорядоченный ход коллагеновых волокон и умеренно выраженную воспалительную инфильтрацию гистиоцитами, лимфоцитами и нейтрофилами, в краях язвы выявлялись кистозно-расширенные железы, выстланные пролиферирующим эпителием (рис. 1А). В опытной группе отмечалась эпителизация язвенного дефекта желудка, в слизистой оболочке язвенных дефектов не выявлено, обнаружены лишь зоны, где определялись железистые полости, выстланные пролиферирующим эпителием. В подлежащей строме слизистой оболоч-

ки определяется фиброзная ткань с упорядоченным ходом коллагеновых волокон и слабо выраженной воспалительной лимфоидно — гистиоцитарной инфильтрацией (рис. 1Б).

Клеточная терапия также оказала позитивные эффекты в тонком кишечнике. В контрольной группе слизистая оболочка с примесью незначительного количества круглых клеток, местами сохранены мелкие очаги некроза, некоторые переходят на подслизистый слой, неравномерно выраженная полиморфноклеточная инфильтрация подслизистого и мышечного слоев, местами плотная, с преобладанием нейтрофилов с распадом значительного их количества (рис. 2А). В опытной группе строение стенки тонкой кишки сохранено, ворсинки выражены, покрыты однослойным цилиндрическим каемчатым эпителием, отмечались отек стромы, выраженная диффузная воспалительная инфильтрация стромы ворсинок, представленная преимущественно лимфоцитами, с примесью небольшого

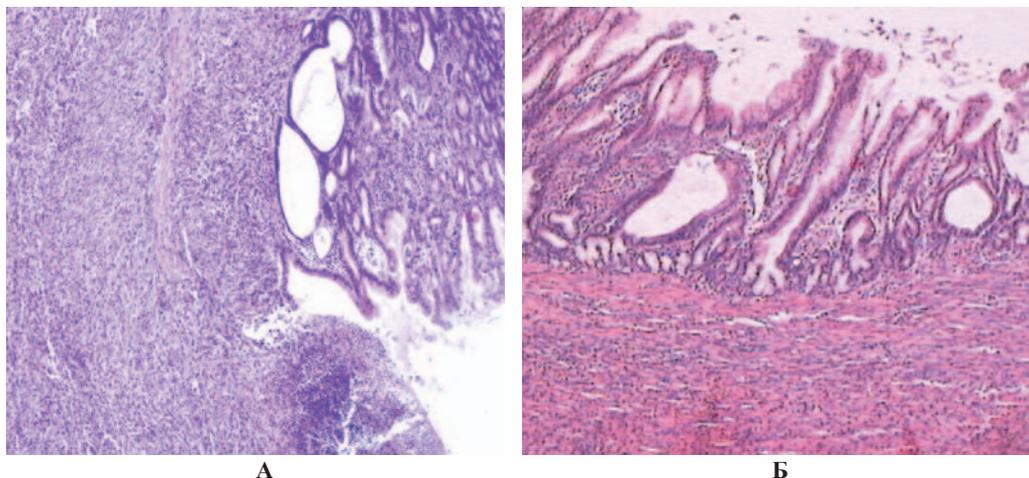


Рис. 1. Гистологическое строение желудка крыс на 30-е сут после трансплантации ККМ: А — после введения физ. р-ра (контроль без ККМ); Б — после трансплантации МНК и ММСК КМ. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$.

Fig. 1. Histological structure of the rat stomach on the 30th day after transplantation of bone marrow cells: А — after the introduction of physical solution (control without bone marrow cells); Б — after transplantation of mononuclear cells and multipotent mesenchymal stromal cells of bone marrow. Hematoxylin-eosin staining. Magn. $\times 200$.

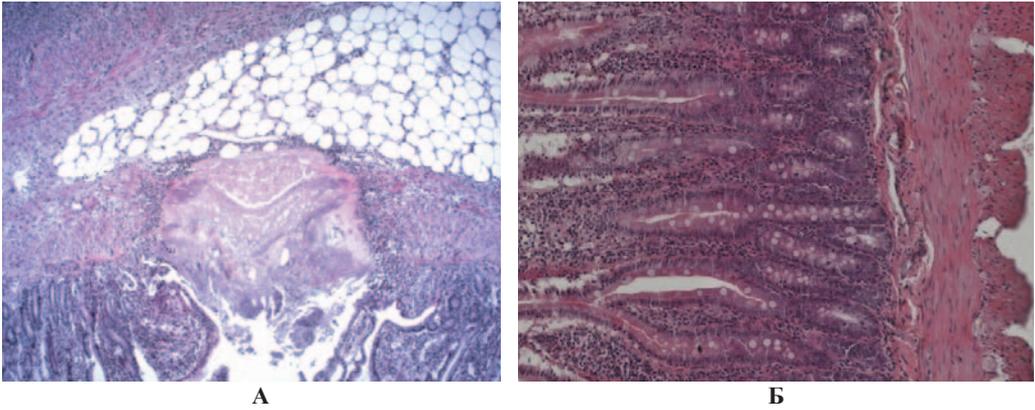


Рис. 2. Гистологическое строение тонкой кишки крыс на 30-е сут после трансплантации ККМ: А — после введения физ. р-ра (контроль без ККМ); Б — после трансплантации МНК и ММСК КМ. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 100$.

Fig. 2. Histological structure of the small intestine of rats on the 30th day after transplantation of bone marrow cells: А — after the introduction of physical solution (control without bone marrow cells); Б — after transplantation of mono-nuclear cells and multipotent mesenchymal stromal cells of bone marrow. Hematoxylin-eosin staining. Magn. $\times 100$.

количества гистиоцитов и плазматических клеток. Крипты выстланы также однорядным цилиндрическим каёмчатым эпителием, как и в ворсинках, отмечается выраженная митотическая активность эпителия крипт. Мышечная пластинка и подслизистый слой хорошо различимы. Мышечный слой представлен двумя слоями гладкомышечной ткани, внутренним циркулярным и наружным продольным. Серозная оболочка представлена одним слоем клеток мезотелия (рис. 2Б).

В толстой кишке у животных контрольной группы сохранялся некроз и десквамация клеток поверхностных участков слизистой оболочки, собственная пластинка слизистой оболочки отечная, с выраженной диффузной воспалительной инфильтрацией, распространяющейся на прилежащие отделы стенки, мышечная пластинка плохо выражена. Подслизистая основа отечная, с полнокровными сосудами. Мышечная оболочка слабо выражена, представлена двумя слоями гладкомышечных клеток — внутренним циркулярным и наружным продольным. Серозная оболочка представлена рыхлой волокнистой соединительной тканью, покрытой слоем клеток мезотелия

(рис. 3А). После трансплантаций ККМ у экспериментальных животных мышечная и серозная оболочка толстой кишки без изменений. В области слизистой оболочки и подслизистой основы прослеживалась выраженная очаговая воспалительная инфильтрация без полиморфноядерных лейкоцитов с формированием крупных, сливающихся лимфоидных фолликулов с выраженными регенераторными центрами (рис. 3Б).

На 30-е сут у животных контрольной группы язвенно-некротические дефекты сохранялись (воспалительная инфильтрация ткани нейтрофилами, лимфоцитами и умеренным количеством гистиоцитов). В опытной группе отмечалась эпителизация язвенного дефекта (коллагеновая ткань с упорядоченным ходом коллагеновых волокон в подлежащей строме слизистой оболочки). Высокий темп регенерации язвенных дефектов при трансплантации был также обусловлен присутствием МНК и ММСК КМ в зоне язвенно-некротического дефекта. Сохраняя свою жизнедеятельность в области язвы, культивированные аллогенные МНК и ММСК обеспечивали продукцию биорегуляторных пептидов,

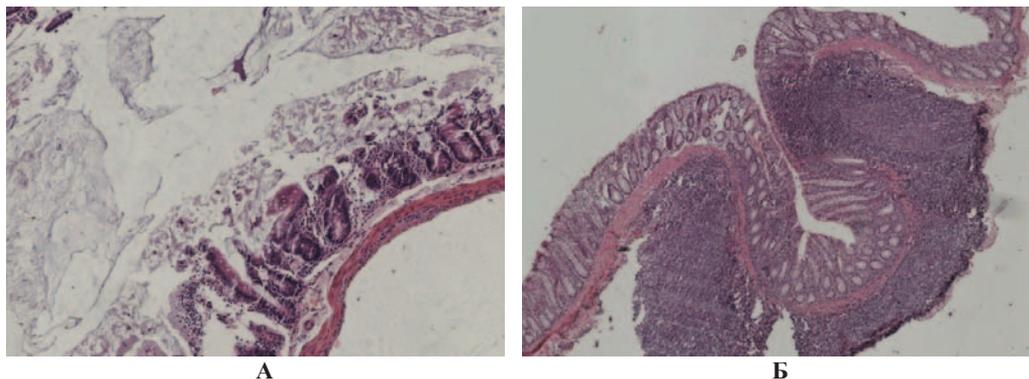


Рис. 3. Гистологическое строение толстой кишки крыс на 30-е сут после трансплантации КМ: А — после введения физ. р-ра (контроль без КМ), ув. $\times 200$; Б — после трансплантации МНК и ММСК КМ, ув. $\times 100$. Окраска гематоксилин-эозином.

Fig. 3. Histological structure of the rat colon on the 30th day after transplantation of bone marrow cells: А — after the introduction of physical solution (control without bone marrow cells), magnification $\times 200$; Б — after transplantation of mononuclear cells and multipotent mesenchymal stromal cells of bone marrow, magnification $\times 100$. Hematoxylin-eosin staining.

которые способствовали восстановлению местного и системного гомеостаза и создавали адекватные условия для регенерации ДНЖ ЖКТ. Выявлена выраженная митотическая активность эпителия крипт, что косвенно подтверждает наличие репаративных (адаптационных) процессов с ускорением дифференцировки и миграции клеток в системе «крипта—ворсинка».

МНК и ММСК аллогенного КМ, длительно функционируя в зоне язвенно-некротического дефекта, становятся продуцентами не только дефицитных тканеспецифических пептидов, но и биологически активных веществ, которые при совместном воздействии на организм восстанавливают регуляцию межклеточного взаимодействия (цАМФ/цГМФ), что создает условия для ускоренного и качественного заживления патогенетических нарушений, характерных для хронического язвенного энтероколита ЖКТ. Известно, что ММСК КМ являются продуцентами TGF β , который является важнейшим регулятором гемопоэза и иммунного ответа [5, 11].

Применение клеточной трансплантации оказывает выраженный противовоспалительный эффект. Благодаря широ-

кому спектру вырабатываемых клетками КМ пептидов, цитокинов, факторов роста и др. сигнальных молекул (до 174 различных факторов) восстанавливается баланс про- и противовоспалительных цитокинов. Устранение цитокинового дисбаланса после клеточной трансплантации создает условия для редукции иммунного воспаления и регуляции апоптоза эпителиоцитов, лимфоцитов и др. клеток, вовлеченных в воспалительный процесс в слизистой оболочке ЖКТ.

Выводы

Трансплантация культивированных аллогенных клеток костного мозга — мононуклеарных клеток и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток — при их одновременном введении является эффективным методом лечения длительно незаживающих, трудно рубцующихся язвенных повреждений ЖКТ, ускоряя процесс восстановительной регенерации в зоне язвенного дефекта, корректируя патологические изменения в организме и ликвидируя тем самым условия для их возникновения.

Ускорение процессов регенерации происходит за счет быстрой смены фаз язвенного

процесса (сокращения сроков и выраженности деструктивно-воспалительной фазы и активизации пролиферативно-регенераторной фазы), стимуляции неоангиогенеза и восстановления микроциркуляторного

русла, улучшения процессов метаболической регуляции, следствием чего становится ингибирование процессов усиленного апоптоза эпителиоцитов в слизистых оболочках ЖКТ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Аскарлов М.Б., Трубицына И.Е., Богатырев С.Р., Онищенко Н.А. Аутологичные стромальные клетки костного мозга корректируют факторы регуляции морфогенеза и ускоряют регенерацию длительно незаживающих язв желудка: *Тез. докл. Ежегод. Всерос. и межд. науч.-практ. конф. «Стволовые клетки и перспектива их использования в здравоохранении»*. М., 2007:55–56. [Askarov M.B., Trubicyna I.E., Bogatyrev S.R., Onishchenko N.A. Autologichnyye stromal'nye kletki kostnogo mozga korregiruyut faktory regulyatsii morfogeneza i uskoryayut regeneratsiyu dlitel'no nezazhivayushchih yavz zheludka [Autologous stromal cells of the bone marrow correct factors regulating morphogenesis and accelerate the regeneration of long-term non-healing gastric ulcers]: *Tez. dokl. Ezhegod. Vseross. i mezhd. nauch.-prakt. konf. «Stvolovye kletki i perspektiva ih ispol'zovaniya v zdravooхранении»* [Abstracts of report of Yearly All-Russian and Int. Scientific-practical Conf. "Stem cells and the prospect of their use in health care"]. Moscow. 2007:55–56. (In Russian)].
2. Князев О.В., Коноплянников А.Г., Лазебник Л.Б., Румянцев В.Г. Перспектива использования мезенхимальных стволовых клеток у больных с патологией органов пищеварения. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2008;6:64–78. [Knyazev O.V., Konoplyannikov A.G., Lazebnik L.B., Romyancev V.G. Perspektiva ispol'zovaniya mezenhimal'nykh stvolovykh kletok u bol'nykh s patologiej organov pishchevareniya [Prospects for the use of mesenchymal stem cells in patients with pathology of the digestive system]. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2008;6:64–78. (In Russian)].
3. Клесов Р.А., Каркищенко В.Н., Степанова О.И., Баранова О.В. Сравнительное экспериментальное биомоделирование НПВС-индуцированного энтероколита. *Биомедицина*. 2020;1:65–81. [Klesov R.A., Karkischenko V.N., Stepanova O.I., Baranova O.V. Sravnitel'noe eksperimental'noe biomodelirovanie NPVS-inducirovannogo enterokolita [Comparative experimental biomodelling of NSAID-induced enterocolitis]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2020;1:65–81. (In Russian)].
4. Лазебник Л.Б., Князев О.В., Парфенов А.И., Ручкина И.Н., Ефремов Л.И. Успешное применение аллогенных мезенхимальных стволовых клеток у больного с язвенным колитом. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2009;4:112–115. [Lazebnik L.B., Knyazev O.V., Parfenov A.I., Ruchkina I.N., Efremov L.I. Uspeshnoe primeneniye allogennykh mezenhimal'nykh stvolovykh kletok u bol'nogo s yavzennym kolitom [Successful use of allogeneic mesenchymal stem cells in a patient with ulcerative colitis]. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2009;4:112–115. (In Russian)].
5. Новик А.А., Камилова Т.А., Цыган В.Н. *Введение в молекулярную биологию канцерогенеза*. Под ред. Ю.Л. Шевченко. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004:224. [Novik A.A., Kamilova T.A., Tsygan V.N. *Vvedenie v molekulyarnuyu biologiyu kancerogeneza [Introduction to the molecular biology of carcinogenesis]*. Ed. by Yu.L. Shevchenko. Moscow: GEOTAR-MED Publ., 2004:224. (In Russian)].
6. Потапов И.В., Ильинский И.М., Куренкова Л.Г. и др. Пленочные системы Эласто ПЮБ с иммобилизованными стромальными клетками костного мозга оптимизируют условия регенерации поврежденных тканей. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2005;51(3):151–157. [Potapov I.V., I'inskij I.M., Kurenkova L.G., et al. Plenochnyye sistemy Elasto POB s immobilizirovannymi stromal'nymi kletkami kostnogo mozga optimiziruyut usloviya regeneratsii povrezhdennykh tkaney. *Kletochnye tekhnologii v biologii i meditsine*. 2005;51(3):151–157. (In Russian)].
7. Aggarwal S., Pittinger M.F. Human mesenchymal progenitor allogenic immune cell responses. *Blood*. 2005;105(4):1815–1822.
8. Assmus B., Schachinger V., Teupe C., et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction. *Circulation*. 2002;206:3009–3017.
9. Caplan A.I. The mesengenic process. *Clin. Plast. Surg.* 1994;21:429–435.
10. Parekkadan B., van Poll D., Sukanuma K., et al. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *Biochem. Biophys. Res. Commun. in press*. 2007;9:941–947.
11. Zhao R.C., Liao L., Han Q. Mechanisms and perspectives on the mesenchymal stem cell in immunotherapy. *J. Lab. Clin. Med.* 2004;143:284–291.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

e-mail: klesrom@mail.ru

Степанова Ольга Ивановна, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

e-mail: olgsima50@mail.ru

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

e-mail: scbmt@yandex.ru

Баранова Оксана Владимировна, ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Лечебно-реабилитационный центр» Минздрава России;

e-mail: 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

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

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

Oksana V. Baranova, National Medical Research Center “Treatment and Rehabilitation Center” of the Ministry of Health Care of Russia;

e-mail: oksanagosha@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-56-61>



НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ И МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИХ МОНИТОРИНГУ

Т.С. Литвиненко, А.В. Сафроненко, Е.В. Ганцгорн, О.М. Куделина*,
Е.С. Постникова, В.А. Чотий

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

Статья посвящена приоритетной для фармакологии проблеме — нежелательным лекарственным реакциям. Приведены современные данные об их распространенности в мире, методических подходах к их мониторингу, обозначены основные задачи развития системы фармаконадзора в России.

Ключевые слова: нежелательная лекарственная реакция, безопасность лекарственных средств, фармаконадзор

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Литвиненко Т.С., Сафроненко А.В., Ганцгорн Е.В., Куделина О.М., Постникова Е.С., Чотий В.А. Нежелательные лекарственные реакции и методические подходы к их мониторингу. *Биомедицина*. 2021;17(3):56–61. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-56-61>

Поступила 20.04.2021

Принята после доработки 03.06.2021

Опубликована 10.09.2021

ADVERSE DRUG REACTIONS AND METHODOLOGICAL APPROACHES TO THEIR MONITORING

Tatyana S. Litvinenko, Andrey V. Safronenko, Elena V. Gantsgorn, Oksana M. Kudelina*,
Elena S. Postnikova, Valeria A. Chotiy

Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia
344022, Russian Federation Rostov-on-Don, Nakhichevskiy Lane, 29

The article is devoted to undesirable drug reactions, an urgent problem of pharmacology. Up-to-date information on their global prevalence is provided, along with methodological approaches to their monitoring. The main directions for the development of the pharmacovigilance system in Russia are outlined.

Keywords: undesirable drug reaction, drug safety, pharmacovigilance

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

For citation: Litvinenko T.S., Safronenko A.V., Gantsgorn E.V., Kudelina O.M., Postnikova E.S., Chotiy V.A. Adverse Drug Reactions and Methodological Approaches to Their Monitoring. *Journal Biomed.* 2021;17(3):56–61. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-56-61>

Submitted 20.04.2021

Revised 03.06.2021

Published 10.09.2021

Введение

Что такое «нежелательная лекарственная реакция»? Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) определяет нежелательную лекарственную реакцию (НЛР) как любой непреднамеренный и вредный для организма человека эффект в условиях применения лекарственного средства (ЛС) в стандартной дозе. В данном аспекте стоит подчеркнуть, что НЛР не эквивалентно понятию «побочный эффект», с позиций фундаментальной фармакологии определяемому как эффект, будь то терапевтический или неблагоприятный, который является вторичным по отношению к предполагаемому, основному действию ЛС, и хотя побочные эффекты преимущественно имеют неблагоприятную характеристику, иногда они оказываются благоприятными для фармакотерапии.

Несмотря на непрерывный мониторинг безопасности ЛС на всех этапах их оборота, по усредненным статистическим данным, на 2019 г. было зафиксировано до 2 млн серьезных НЛР в мире, из которых около 100–240 тыс. имели летальные последствия [13]. Даже в развитых странах мира лекарственно-ассоциированные осложнения развиваются у миллионов людей, а смертность в результате НЛР постепенно выходит на 4–5-е место после сердечно-сосудистых, онкологических, бронхо-легочных заболеваний и травм [13]. Масштабный детальный анализ медицинских карт пациентов демонстрирует, что частота госпитализаций, связанных с НЛР, варьирует от 2,3 до 21,2% в разных странах мира, при этом значительная часть данных осложнений — потенциально предотвратима [8, 9, 12, 14, 17].

В связи с этим проблема безопасности лекарственной терапии и, в частности, НЛР, безусловно, является приоритетной для здравоохранения на международном уровне.

Механизмы НЛР и системы мониторинга безопасности фармакотерапии

НЛР очень разнообразны по своим патогенетическим механизмам и течению. Зачастую их развитие связано с проблемой полипрагмазии, т.е. необоснованного одновременного назначения пациенту большого количества (5 и более) ЛС. В таком случае риск развития НЛР, обусловленных аспектами межлекарственного взаимодействия ЛС, возрастает в несколько раз. Опираясь на статистические данные, можно утверждать, что при одновременном применении 8-ми ЛС НЛР встречаются у 10% больных, а когда лекарственная терапия преодолевает планку в 16 ЛС, то НЛР встречаются у 40% больных [1]. Иногда ЛС применяются пациентами самостоятельно, без врачебного контроля, поэтому часть НЛР связана и с влиянием субъективных факторов. Кроме этого, развитию НЛР способствует низкая приверженность больных к лечению. Все это в совокупности предопределяет трудность прогнозирования и выявления НЛР [3].

Учитывая масштабность проблемы НЛР, было разработано значительное количество методик и систем мониторинга безопасности фармакотерапии в разных странах.

Наиболее перспективным и широко распространенным в последние десятилетия является активный мониторинг. Как правило, активным мониторингом выявляются максимальные значения встречаемости НЛР у пациентов. В среднем, методом активного мониторинга НЛР выявляются у 6–11% пациентов, получающих фармакотерапию. Активный мониторинг может проводиться как проспективно, так и ретроспективно [2].

Одной из эффективных систем, которая составляет основу фармаконадзора во многих странах, является система спонтанной отчетности. Ярким примером страны, где используется эта система,

является Великобритания, где учреждено агентство, занимающееся контролем ЛС и качеством медицинской продукции (Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency — MHRA). В основе его работы — сбор спонтанных сообщений о случаях НЛР по схеме Yellow Card от пациентов, врачей, фармацевтов, медицинского персонала. На основании всех получаемых данных MHRA принимает соответствующие меры по предотвращению и минимизации НЛР [15].

В США существует целый ряд систем по борьбе с НЛР. Основной из них является программа Med Watch. Основные функции данной системы состоят в упрощении подачи уведомления о случае НЛР, а также обобщении и идентификации спонтанных сообщений. В рамках этой программы происходит сбор информации о нежелательных эффектах ЛС, диагностических устройств, биологически активных добавок и т. д. Другая программа — Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS). Ее основная задача — обеспечение безопасности существующих вакцин. Посредством постмаркетингового надзора за безопасностью вакцин, сбора и анализа информации о НЛР, а также учета возможных НЛР в ответ на вакцину [16].

В Австралии мониторинг безопасности ЛС включен в сферу деятельности Управления Терапевтических Товаров (Therapeutic Goods Administration's (TGA)). В TGA приходят все отчеты о НЛР ЛС, медицинском оборудовании и вакцинах. Для удобного сбора всех сообщений и отчетов по НЛР была создана специализированная система — ADRS — Adverse Drug Reaction Reporting System, задача которой заключается в приеме обращений от медицинских работников, производителей ЛС, а также от потребителей. По статистике, TGA фиксирует более 17 000 обращений в год, связанных с НЛР на ЛС или вакцину, из которых в 2018 году 55% было получено

от фармацевтических компаний, а 18% — от пациентов и врачей [10, 11].

Для интеграции всех данных и сообщений, которые получают разные страны мира, существует Международная система мониторинга нежелательных реакций ЛС (An international system for monitoring adverse reactions to drugs). Штабквартира ВОЗ отвечает за вопросы политики, а операционная ответственность за осуществление программы лежит на центре ВОЗ по международному мониторингу ЛС в г. Упсала в Швеции (Uppsala Monitoring Centre) [18].

В России с 2016 г. контрольно-надзорной системой — фармаконадзором — используется риск-ориентированный подход к оценке безопасности ЛС, позволяющий ранжировать риски, экономить ресурсы и уменьшать административную нагрузку. Основным источником информации о НЛР служат спонтанные сообщения [1].

При анализе сообщений о НР крайне важным является определение степени достоверности причинно-следственной связи (ПСС) между нежелательной реакцией и применением ЛС. Однако широко используемые в фармаконадзоре методы определения степени достоверности ПСС — шкала Наранжо, шкала «АВО», метод Karch F. E., Lasagna L., шкала Horn-Hansten — не позволяют получить абсолютно достоверные данные соответствующей ППС [4].

Важнейшим компонентом в программах фармаконадзора являются постмаркетинговые исследования ЛС, включающие и оценку НЛР. Актуальность таких наблюдений в отношении новых ЛС абсолютно бесспорна, т. к. редкие побочные эффекты статистически не могут быть выявлены в период II–III фаз клинических исследований. Новые НЛР при использовании как инновационных ЛС, так и применяемых в течение многих лет могут регистрироваться в течение всего периода их оборота и пра-

ктического применения [7]. Кроме этого, «инструментами» отслеживания НЛР служат активный мониторинг стационара, рецептурный мониторинг.

На сегодняшний день в России и за рубежом сложилась сложная ситуация по количеству, характеру и последствиям НЛР, что обуславливает необходимость оптимизации методологии рационального и информативного фармакомониторинга. Основными проблемами в области фармаконадзора в РФ на современном этапе его развития являются [1, 3, 5, 6]:

1. Нежелание производителей ЛС выявлять случаи НПР и сообщать о них.
2. Низкая активность медицинских работников в аспекте подачи спонтанных сообщений о НЛР.
3. Недостаточная информированность медицинских работников и пациентов о деятельности фармаконадзора в России.
4. Недостаточно высокое качество отправляемых спонтанных сообщений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Глаголев С.В., Горелов К.В., Чижова Д.А. Развитие системы фармаконадзора в Российской Федерации. *Вестник Росздравнадзора*. 2019;(2):72–77. [Glagolev S.V., Gorelov K.V., Chizhova D.A. Razvitie sistemy farmakonadzora v Rossijskoj Federacii [Development of the pharmacovigilance system in the Russian Federation]. *Bulletin of Roszdravnadzor*. 2019;(2):72–77. (In Russian)].
2. Гудилина Н.А., Ростова Н.Б. Нежелательные побочные реакции лекарственных препаратов как критерий безопасности терапии. *Медицинский альманах*. 2017;3(48):186–192. [Gudilina N.A., Rostova N.B. Nezhelatel'nye pobochnye reakcii lekarstvennyh preparatov kak kriterij bezopasnosti terapii [Adverse drug reactions as a safety criterion for therapy]. *Medical almanac*. 2017;3(48):186–192. (In Russian)].
3. Журавлева М.В., Романов Б.К., Городецкая Г.И., Муслимова О.В., Крысанова В.С., Демченкова Е.Ю. Актуальные вопросы безопасности лекарственных средств, возможности совершенствования системы фармаконадзора. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2019;7(3):109–119. [Zhuravleva M.V., Romanov B.K., Gorodeckaya G.I., Muslimova O.V., Krysanova V.S., Demchenkova E.Yu.

Заключение

Перечисленные выше факты обуславливают необходимость постоянного мониторинга профиля безопасности ЛС и высокую научно-практическую актуальность исследований, в т.ч. фармакоэпидемиологических, проводимых в данном направлении. Кроме этого, важными критериями «оптимальности» фармакотерапии являются показатели экономической оценки ее эффективности, поэтому одним из важнейших элементов принятия управленческих решений в сфере обращения ЛС должны являться результаты фармакоэкономических исследований.

Актуальными, на наш взгляд, аспектами научно-практического интереса для медицины в целом и фармакологии в частности по-прежнему остаются поиск и разработка новых подходов к оценке профиля безопасности ЛС, в т.ч. с использованием возможностей фармакоэпидемиологического и фармакоэкономического анализа.

- Aktual'nye voprosy bezopasnosti lekarstvennyh sredstv, vozmozhnosti sovershenstvovaniya sistemy farmakonadzora [Topical issues of drug safety, possibilities of improving of pharmacovigilance]. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii [Safety and risk of pharmacotherapy]*. 2019;7(3):109–119. (In Russian). DOI: 10.30895/2312-7821-2019-7-3-109-119.
4. Лепяхин В.К., Романов Б.К., Торопова И.А. Анализ сообщений о нежелательных реакциях на лекарственные средства. *Ведомости НЦЭСМП*. 2012;1:22–25. [Lepahin V.K., Romanov B.K., Toropova I.A. Analiz soobshchenij o nezhelatel'nyh reakciyah na lekarstvennye sredstva [Analysis of reports of adverse drug reactions]. *Vedomosti NCESMP [Bulletin of NCESMP]*. 2012;1:22–25. (In Russian)].
5. Литвиненко Т.С., Сафроненко А.В., Ганцгорн Е.В., Дятчина Л.И., Замлелая И.В., Мякота И.М., Быстровский В.О. Нежелательные побочные реакции как актуальная проблема фундаментальной и клинической фармакологии. *Биомедицина*. 2020;16(3):115–119. [Litvinenko T.S., Safronenko A.V., Gantsgorn E.V., Dyatchina L.I., Zamlelaya I.V., Myakota I.M., Bystrovskij V.O. Nezhelatel'nye pobochnye reakcii kak aktual'naya problema fundamental'noj i klinicheskoy farma-

- kologii [Undesirable side reactions as an urgent problem of fundamental and clinical pharmacology]. *Biomeditsina [Journal Biomed.]*. 2020;16(3):115–119. (In Russian)]. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-3-115-119>.
6. Хосева Е.Н., Морозова Т.Е., Ермаков Д.А., Ошорова С.Д. Вопросы контроля безопасности лекарственной терапии в широкой клинической практике: позиции пациентов и медработников. *Врач-аспирант*. 2013;2.1(57):203–212. [Hoseva E.N., Morozova T.E., Ermakov D.A., Oshorova S.D. Voprosy kontrolya bezopasnosti lekarstvennoy terapii v shirokoj klinicheskoy praktike: pozicii pacientov i medrabotnikov [The issues of monitoring the safety of drug therapy in clinical practice: positions of patients and medical workers]. *Vrach-aspirant [The doctor-post-graduate student]*. 2013;2.1(57):203–212. (In Russian)].
 7. Шубникова Е.В., Дармостукова М.А., Букатина Т.М., Каперко Д.А., Вельц Н.Ю., Казаков А.С., Снегирева И.И., Журавлева Е.О., Кутехова Г.В. О зарегистрированных в постмаркетинговый период нежелательных реакциях лекарственных средств. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2019;7(1):15–22. [Shubnikova E.V., Darmostukova M.A., Bukatina T.M., Kapferko D.A., Vel'ts N.Yu., Kazakov A.S., Snegireva I.I., Zhuravleva E.O., Kutekhova G.V. O zaregistririvannykh v postmarketingovyy period nezhelatel'nykh reakciyah lekarstvennykh sredstv [The adverse drug reactions registered during the postmarketing period]. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii [Safety and risk of pharmacotherapy]*. 2019;7(1):15–22. (In Russian)]. DOI: 10.30895/2312-7821-2019-7-1-15-22.
 8. Ahern F., Sahm L.J., Lynch D., McCarthy S. Determining the frequency and preventability of adverse drug reaction-related admissions to an Irish University Hospital: a cross-sectional study. *Emerg. Med. J.* 2014;31:24–29.
 9. Akbari Sari A., Doshmangir L., Torabi F., Rashidian A., Sedaghat M., Ghomi R. The incidence, nature and consequences of adverse events in Iranian hospitals. *Arch. Iran Med.* 2015;18:811–815.
 10. Australian Adverse Drug Reaction Reporting System.
 11. Australian Adverse Drug Reactions Bulletin.
 12. Bénard-Larivière A., Miremont-Salamé G., Pérault-Pochat M.-C., Noize P., Haramburu F. Incidence of hospital admissions due to adverse drug reactions in France: the EMIR study. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2015;29:106–111.
 13. http://www.who.int/medicines/areas/rational_use/ru
 14. Leendertse A.J., Visser D., Egberts A.C.G., van den Bemt P.M.L.A. The relationship between study characteristics and the prevalence of medication-related hospitalizations: a literature review and novel analysis. *Drug Saf.* 2010;33:233–244.
 15. Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency.
 16. MedWatch: The FDA Safety Information and Adverse Event Reporting Program.
 17. Pedrós C., Quintana B., Rebolledo M., Porta N., Vallano A., Arnau J.M. Prevalence, risk factors and main features of adverse drug reactions leading to hospital admission. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2014;70:361–367.
 18. Uppsala Monitoring Centre.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Литвиненко Татьяна Сергеевна, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: ts.litvinenko@gmail.com

Сафроненко Андрей Владимирович, д.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: andrejsaf@mail.ru

Ганцгорн Елена Владимировна, к.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: gantsgorn@inbox.ru

Куделина Оксана Михайловна*, к.м.н., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: kuomi81@mail.ru

Tatyana S. Litvinenko, Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: ts.litvinenko@gmail.com

Andrey V. Safronenko, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: andrejsaf@mail.ru

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

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

Постникова Елена Сергеевна, к.м.н., ФГБОУ
ВО «Ростовский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Elena S. Postnikova, Cand. Sci. (Med.), Rostov
State Medical University of the Ministry of Health
Care of Russia

Чотий Валерия Александровна, ФГБОУ ВО
«Ростовский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Valeria A. Chotiy, Rostov State Medical University
of the Ministry of Health Care of Russia

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-62-67>



СТАНДАРТИЗАЦИЯ КРИТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ЛИПОСОМ ЭКСТРАКТА ПРЕПУЦИАЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ МУСКУСА КАБАРГИ СИБИРСКОЙ

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

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

Стандартизована и охарактеризована липосомальная форма нового оригинального продукта на основе препуциальной железы мускуса кабарги сибирской. Для препаративного выделения липосом мускуса кабарги использован эффективный и масштабируемый метод гомогенизации при высоком давлении. Полученный липосомальный продукт охарактеризован методами просвечивающей электронной микроскопии, динамического светорассеяния, препаративной и аналитической хроматографии, хромато-масс-спектрометрии. Разработана спецификация на липосомальную форму экстракта препуциальной железы кабарги сибирской, включающей все критические показатели качества продукта. Получены гомогенные дисперсии липосом мускуса кабарги с равномерным распределением по размерам — с максимумами распределения при 50 и 240 нм. Установлена высокая физико-химическая стабильность липосомальной дисперсии: дзета-потенциал полученных наночастиц составил $-5...-35$ мВ. Степень включения в липосомы целевых компонентов мускуса кабарги по данным гель-размерной хроматографии и масс-спектрометрии для липосом мускуса по стероидным компонентам и общему белку составила 58–75%. Разработанные показатели качества липосомального продукта позволяют проводить серийную стандартизацию выпускающего контроля качества и формируют предпосылки к гарантированной высокой эффективности продукта на основе липосомальной формы экстракта мускуса кабарги как адаптогена природного происхождения с усиленным и выраженным действием.

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

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Нестеров М.С., Агельдинов Р.А., Хвостов Д.В., Кохан В.С., Левашова А.И., Люблинский С.Л., Каркищенко В.Н. Стандартизация критических показателей качества липосом экстракта препуциальной железы мускуса кабарги сибирской. *Биомедицина*. 2021;17(3):62–67. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-62-67>

Поступила 01.04.2021

Принята после доработки 30.04.2021

Опубликована 10.09.2021

STANDARDIZATION OF CRITICAL QUALITY INDICATORS OF LIPOSOMES OF SIBERIAN MUSK DEER PREPUCIAL GLAND EXTRACT

Maxim S. Nesterov*, Ruslan A. Ageldinov, Daniil V. Khvostov, Victor S. Kokhan,
Anna I. Levashova, Stanislav L. Lyublinskiy, Vladislav N. Karkischenko

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

The liposomal form of a new original remedy based on the preputial gland of Siberian musk has been standardized and characterized. For the preparative isolation of musk liposomes, an effective and scalable method of high-pressure homogenization was used. The resulting liposomal product was characterized by transmission electron microscopy, dynamic light scattering, preparative and analytical chromatography, and chromatography-mass spectrometry. A specification for the liposomal form of the extract of the preputial gland of Siberian musk deer, including all critical indicators of the product quality, has been developed. Homogeneous dispersions of musk liposomes with uniform size distribution — with distribution maxima at 50 and 240 nm — were obtained. The high physical and chemical stability of the liposomal dispersion was established: the zeta potential of the obtained nanoparticles was $-5 \dots -35$ mV. The degree of inclusion in the liposomes of the target components of musk according to gel-size chromatography and mass spectrometry for musk liposomes for steroid components and total protein was 58–75%. The developed quality indicators of the liposomal product allow for serial standardization of the manufacturing quality control and form the prerequisites for guaranteed high efficiency of the product based on the liposomal form of musk extract as an adaptogen of natural origin with an enhanced and pronounced effect.

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

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

For citation: Nesterov M.S., Ageldinov R.A., Khvostov D.V., Kokhan V.S., Levashova A.I., Lyublinskiy S.L., Karkischenko V.N. Standardization of Critical Quality Indicators of Liposomes of Siberian Musk Deer Preputial Gland Extract. *Journal Biomed.* 2021;17(3):62–67. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-62-67>

Submitted 01.04.2021

Revised 30.04.2021

Published 10.09.2021

Введение

Мускус — продукт препуциальной железы кабарги сибирской (*Moschus moschiferus*) — давно известный как обладающий широким спектром биологической активности, обусловленной многокомпонентным составом: андростероиды и их метаболиты, гетероциклические соединения (пиримидины и фураны), воски, жиры, сложные эфиры холестерина, белки и пептиды и т. д. [1]. Такой сложный и многокомпонентный состав предъявляет особые требования к форме лекарственного средства, обеспечивающей биологическую доступ-

ность, снижение системной токсичности, защиту от деградации, контроль высвобождения и целевую доставку фармацевтической субстанции. Одной из подходящих форм лекарственного средства являются липосомы.

С момента открытия Bangham и Horne в 1964 году, потенциал использования липосом как носителей для целевой доставки лекарств был хорошо исследован и значительно расширен; пути доставки включают парентеральный, пероральный, легочный, назальный, глазной и трансдермальный. Липосомы в упрощённом представле-

нии являются сферическими везикулами из бислоя липидов с внутренней водной полостью. Фосфолипиды или синтетические амфифильные молекулы с включениями из стеринов, такие как холестерин, являются основными структурными компонентами липосом. Гидрофильные компоненты фармацевтических субстанций включаются в полость, тогда как гидрофобные внедряются непосредственно в везикулярную мембрану [2].

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

Наиболее часто встречающийся диаметр коммерческих одноламеллярных липосом лежит в диапазоне 70–200 нм, притом что в исследовательских работах встречаются везикулы диаметром от нескольких нм до нескольких мкм. Везикулы с диаметром более 200 нм имеют тенденцию к преобразованию в мультламеллярный тип, при котором стенка состоит из десятков или сотен бислоев фосфолипидов, что существенно замедляет высвобождение активных компонентов [4]. Принято считать, что чем выше ζ -потенциал (вне зависимости от знака), тем более стабильны коллоидные растворы липосом. Однако рост потенциала выше 40 мВ приводит к взаимодействию с растворителем и формированию крупных агрегатов. Исходя из назначения везикул, так-

же существует оптимум ζ -потенциала. Так, в экспериментах на мышах было показано, что $\zeta = -7,6$ мВ обеспечивает более длительное циркулирование липосом в организме и их высокое накопление в опухоли [3].

Целью работы явилось комплексное изучение физико-химических свойств и разработка перечня критических показателей качества липосомированной формы мускуса кабарги сибирской в форме спецификации.

Материалы и методы

Липосомированную форму мускуса кабарги сибирской получали методом гомогенизации высоким давлением, описанным ранее [1].

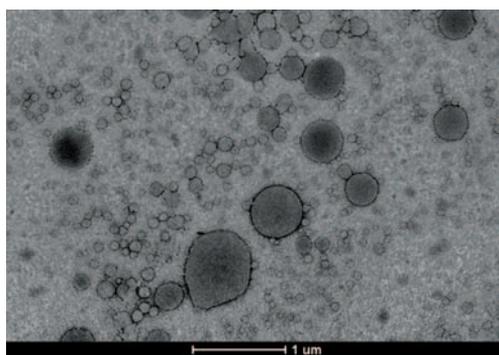
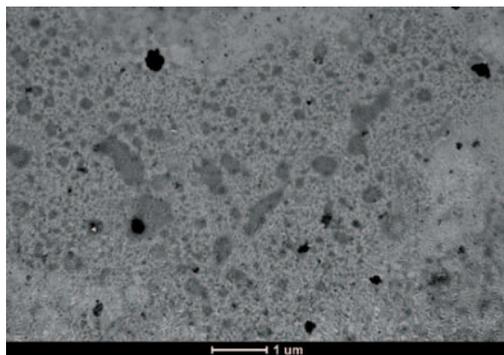
Визуализацию липосом мускуса кабарги проводили в просвечивающем электронном микроскопе Tecnai G2 Spirit bioTWIN («FEI», США) при ускоряющем напряжении 120 кВ и увеличениях от 5000 до 80000 крат. методом негативного контрастирования.

Оценку среднего диаметра и распределения по размеру липосом проводили методом динамического рассеяния света на анализаторе Photocor Compact-Z (ООО «Фотокор», Россия).

Оценку ζ -потенциала проводили методом электрофоретического рассеяния света на анализаторе Photocor Compact-Z (ООО «Фотокор», Россия).

Индекс окисленности определяли спектрофотометрически (Multiscan Go, «Thermo Scientific», США) как соотношение интенсивности полос поглощения в УФ-спектре анализируемых липосом (A233/A215), что достаточно полно отражает процессы окисления, проходящие в липидах как в ходе получения и хранения липидов, так и при формировании липосом.

Хромато-масс-спектрометрический анализ для подтверждения стероидной подлинности получаемого продукта выпол-



*Рис. Микрофотографии липосом мускуса кабарги.
Fig. Micrographs of musk liposomes.*

няли на ГХ–МС анализаторе «Хроматэк», состоящем из газового хроматографа «Хроматэк-Кристалл 5000» и жидкостного дозатора ДАЖ-2 М (3 Д).

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

Результаты исследований

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

Прослеживаются отдельные моноламеллярные липосомы сферической формы, что также подтверждает подлинность субстанции. На переднем фоне четко видны несколько крупных липосом от 300 до 500 нм, хорошо нагруженных (окрашенных) гидрофильными (внутренний объем везикул) и гидрофобными (пространство внутри внешнего бислоя везикул, образованного фосфолипидами) компонентами, входящими в состав мускуса кабарги. Необходимо подчеркнуть, что на всех микрофотографиях основная фракция липосом представлена частицами с диаметром около 200 нм. Значение индекса окисленности испытуемых растворов липосом мускуса кабарги не превышает показателя 0,5.

Выводы

В результате мультиметодического анализа трёх технологических серий липосомальной формы экстракта мускуса кабарги разработан проект спецификации продукта для применения в стандартизации и валидации технологического процесса получения субстанции и готовых форм на основе экстрактивного материала мускуса кабарги сибирской (таблица).

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

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

Показатель	Метод	Норма
Описание	Органолептический ГФ XIII, ОФС 1.1.0006.15, ч. 1	Лиофилизированный аморфный порошок светло-коричневого цвета с характерным запахом и вкусом мускуса
Растворимость	ГФ XIII, ОФС 1.2.1.0005.15, ч. 1, с. 531	Мало растворим в воде, мало растворим в спирте 96%, практически не растворим в гексане
Подлинность: - присутствие липосом; - наличие БАВ мускуса	1. Электронная микроскопия (метод негативного контрастирования). 2. ГХ-МС (ГХ-ПИД). 3. ВЭЖХ-УФ.	Моноамеллярные липосомы сферической формы. Время удерживания основных пиков на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основных пиков на хроматограмме стандартного образца субстанции. Время удерживания основных пиков на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основных пиков на хроматограмме стандартного образца субстанции.
Размер частиц	ГФ XII, ч. 2 Фотодинамическое и лазерное светорассеяние	250±100 нм
Индекс полидисперсности	Фотодинамическое и лазерное светорассеяние	Не более 0,5
Дзета-потенциал	Динамическое светорассеяние	- 5...-20 мВ
Процент включения БАВ мускуса	Гель-хроматография	Не менее 50%
Индекс окисленности	Спектрофотометрия	Не более 0,5
pH	ГФ РФ, ОФС 1.1.0006.15 (потенциометрический метод)	От 6,0 до 8,0 (1% р-р)
Вода	ГФ РФ, ОФС 1.2.3.0002.15	Не более 6,0%
Общий белок	ГФ РФ, ОФС 1.2.3.0012.15. Метод Бредфорд (колориметрический)	Не более 4,0%
Сульфатная зола	ГФ РФ, ОФС 1.2.2.2.0014.15	Не более 5,0%
Тяжелые металлы	ГФ РФ, ОФС 1.2.2.2.0012.15	Не более 0,002%
Остаточные органические растворители	ГХ РФ	Этанола – не более 0,5%. Изопропилового спирта – не более 0,5%
Микробиологическая чистота	ГФ РФ, ОФС 1.2.4.0002.15	Категория 3.2
Количественное определение	ВЭЖХ	Не менее 90,0% и не более 110,0% в пересчете на безводное вещество

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Каркищенко В.Н., Дуля М.С., Агельдинов Р.А., Люблинский С.Л., Каркищенко Н.Н. Липосомированная форма экстракта препуциальной железы кабарги — новое средство адаптогенного действия. *Биомедицина*. 2019;15(4):34–45. [Karkischenko V.N., Dulya M.S., Ageldinov R.A., Lyublinskiy S.L., Karkischenko N.N. Liposomirovannaya forma ekstrakta prepucial'noj zhelezy kabargi — novoe sredstvo adaptogennoho dejstvviya [A liposomal composition of musc deer preputial gland extract as a new agent of adaptogenic]. *Biomeditsina [Journal Biomed.]*. 2019;15(4):34–45. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-15-4-34-45.
- Bulbake U., Doppalapudi S., Kommineni N., Khan W. Liposomal formulations in clinical use: an updated review. *Pharmaceutics*. 2017;9(2). DOI: 10.3390/pharmaceutics9020012.

- Lee J.S., Ankone M., Pieters E., Schiffelers R.M., Hennink W.E., Feijen J. Circulation kinetics and biodistribution of dual-labeled polymersomes with modulated surface charge in tumor-bearing mice: comparison with stealth liposomes. *J. Control Release*. 2011;155(2):282–288. DOI: 10.1016/j.jconrel.2011.07.028.
- Maherani B., Arab-tehrany E., Kheirloomoom A., Reshetov V., Stebe M.J., Linder M. Optimization and characterization of liposome formulation by mixture design. *The Analyst*. 2012;137(3):773–786. DOI: 10.1039/c1an15794a.
- Zylberberg C., Matosevic S. Pharmaceutical liposomal drug delivery: a review of new delivery systems and a look at the regulatory landscape. *Drug Deliv*. 2016;23(9):3319–3329. DOI: 10.1080/10717544.2016.1177136.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

Агельдинов Руслан Андреевич, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: ageldinov@gmail.com

Хвостов Даниил Владиславович, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: daniil_hvostov@mail.ru

Кохан Виктор Сергеевич, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: viktor_kohan@hotmail.com

Левашова Анна Игоревна, к.х.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: annalevashova3@gmail.com

Люблинский Станислав Людвигович, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: mobitek-m@mail.ru

Каркищенко Владислав Николаевич, д.м.н., проф., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: scbmt@yandex.ru

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

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

Daniil V. Khvostov, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: daniil_hvostov@mail.ru

Viktor S. Kokhan, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: viktor_kohan@hotmail.com

Anna I. Levashova, Cand. Sci. (Chem.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: annalevashova3@gmail.com

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

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

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



ЭЛЕКТРООПТИЧЕСКИЙ МЕТОД ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПАТОЛОГИЙ КРОВΟΣНАБЖЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

А.А. Николаев^{1*}, Н.Н. Каркищенко², Ю.А. Чудина¹, Д.Б. Чайванов¹, А.А. Вартанов¹

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

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

Настоящая работа посвящена созданию нового упрощенного метода экспресс-диагностики по данным электрокардиограммы и фотоплетизмограммы патологий нарушения мозгового кровоснабжения вертеброгенной и невертеброгенной природы на примере синдрома позвоночной артерии при остеохондрозе шейного отдела позвоночника и соматоформной дисфункции вегетативной нервной системы, соответственно. В ходе работы было проведено несколько экспериментальных исследований динамики характеристик variability сердечного ритма и дифференциальных показателей согласованной работы сердца и сосудов по данным методов электрокардиографии и фотоплетизмографии у добровольцев с особенностями мозгового кровоснабжения, возникающими вследствие потери пластичности и сужения кровеносных сосудов головного мозга, а также возникающими вследствие механического сдавливания кровеносных сосудов, по сравнению со здоровыми добровольцами. По результатам исследований было выявлено наличие значимых (с уровнем значимости менее 0,05) различий между каждой из групп испытуемых по ряду показателей. В конце работы проводится канонический дискриминантный анализ показателей согласованности работы сердца и сосудов для всех трех групп испытуемых в целях определения критериев и дифференциальной возможности показателей к разделению лиц с нарушениями вертеброгенной природы, невертеброгенной природы и здоровых добровольцев. В результате проведенного анализа была показано, что разделяющей способностью обладают три переменные, каждая из которых по-разному характеризует соответствие между работой сердца и сосудов.

Ключевые слова: нарушения мозгового кровоснабжения, патологии вертеброгенной и невертеброгенной природы, variability сердечного ритма, показатели согласованной работы сердца и сосудов, электрокардиограмма, фотоплетизмограмма

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Николаев А.А., Каркищенко Н.Н., Чудина Ю.А., Чайванов Д.Б., Вартанов А.А. Электрооптический метод дифференциальной диагностики патологий кровоснабжения головного мозга. *Биомедицина*. 2021;17(3):68–73. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-68-73>

Поступила 16.04.2021

Принята после доработки 17.05.2021

Опубликована 10.09.2021

AN ELECTRO-OPTICAL METHOD FOR DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF PATHOLOGIES OF BLOOD SUPPLY TO THE BRAIN

Andrei A. Nikolaev^{1,*}, Nikolay N. Karkischenko², Yulia A. Chudina¹, Dmitriy B. Chaivanov¹,
Alexandr A. Vartanov¹

¹ National Research Center "Kurchatov Institute"
123182, Russian Federation, Moscow, Academician Kurchatov Square, 1

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

This work is devoted to the development of a new simplified method for express diagnostics of cerebral blood supply disorders of a vertebrogenic and non-vertebral nature based on electrocardiogram and photoplethysmogram data. The research was conducted using the example of vertebral artery syndrome in osteochondrosis of the cervical spine and somatoform dysfunction of the autonomic nervous system, respectively. Several experimental studies into the dynamics of heart rate variability and differential indicators of the coordinated work of the heart and blood vessels were carried out according to the data of electrocardiography and photoplethysmography. Three experimental groups included healthy volunteers and volunteers with cerebral blood supply disorders connected with either the loss of plasticity and narrowing of brain blood vessels or their mechanical squeezing. According to the research results, statistically significant (with a significance level of less than 0.05) differences by a number of indicators were revealed between the experimental groups. A conventional discriminant analysis of the indicators of the coordinated work of the heart and blood vessels was carried out for all experimental groups in order to determine criteria for differentiating people with vertebrogenic disorders, non-vertebral disorders and healthy volunteers. It is concluded that three variables can be used for such differentiation, each of which describes the coordinated work of the heart and blood vessels in a specific way.

Keywords: cerebral blood supply disorders, pathologies of vertebrogenic and non-vertebral nature, heart rate variability, indicators of coordinated work of the heart and blood vessels, electrocardiogram, photoplethysmogram

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

For citation: Nikolaev A.A., Karkischenko N.N., Chudina Yu.A., Chaivanov D.B., Vartanov A.A. An Electro-Optical Method for Differential Diagnosis of Pathologies of Blood Supply to the Brain. *Journal Biomed.* 2021;17(3):68–73. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-68-73>

Submitted 16.04.2021

Revised 17.05.2021

Published 10.09.2021

Введение

В настоящее время все более распространяются профессии, успешность реализации которых основана на необходимости эффективного сопряжения решения умственных задач с точным выполнением двигательных. Примером таких профессий являются операторы сложных технических комплексов. Успешность выполнения разной профессиональной деятельности, требующей высокой точности

и эффективности, основана на поддержании необходимого и достаточного кровообращения головного мозга. Такие профессии, как правило, сопряжены с длительным и неподвижным пребыванием на рабочем месте, что, в свою очередь, способствует риску развития гипоксии головного мозга.

В связи с нехваткой кровообращения головного мозга стали широко распространены заболевания вертеброгенной, т. е. обусловленные изменениями в позвоноч-

нике, и невертеброгенной, т. е. обусловленные иными изменениями, природы. Среди множества таких заболеваний наиболее типичными и опасными являются синдром позвоночной артерии при остеохондрозе шейного отдела позвоночника (СПА при ОШОП, М47.0+ по международной классификации болезней (МКБ-10)), сопровождающийся механическим сдавливанием кровеносных сосудов, и соматоформная дисфункция вегетативной нервной системы (СДВНС, F45.3), сопровождающаяся нарушением нервной регуляции сосудистого тонуса. Опасность данных патологий обуславливается слабобыраженной или, в некоторых случаях, отсутствующей симптоматикой на начальных стадиях заболевания, что затруднительно или не может быть обнаружено с помощью традиционных методов, основанных на эффекте Доплера и ультразвуковых способах диагностики. Более того, дальнейшее развитие данных патологий способствует развитию внезапных и деструктурирующих нарушений в работе органов, что может привести к частичной или полной потере работоспособности, инвалидности и даже смерти.

В связи с этим работа посвящена созданию нового упрощенного метода экспресс-диагностики данных патологий на ранних этапах заболевания, основанного на сравнительном анализе особенностей кровоснабжения головного мозга при нормальных условиях и в условиях нехватки кислорода на примере СПА при ОШОП и СДВНС.

Целью работы является разработка и создание метода непрерывного мониторинга и дифференциальной диагностики особенностей кровоснабжения головного мозга на основе показателей согласованности работы сердца и сосудов по данным электрокардиограммы (ЭКГ) и фотоплетизмограммы (ФПГ).

Материалы и методы

Дизайн эксперимента

В работе был проведен ряд экспериментальных исследований, проходивших на базе ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Добровольцы, принявшие участие в исследовании, были ознакомлены с условиями проведения процедуры, одобренной биоэтическим комитетом, и подписывали информированное добровольное согласие.

В исследовании приняли участие три группы добровольцев, среди которых были две экспериментальные и одна контрольная. В состав каждой из групп входили и мужчины, и женщины. Первая экспериментальная группа (группа СПА) состояла из 6-ти человек (средний возраст — 34 года) с диагностированным СПА при ОШОП, в состав второй экспериментальной группы (группа СДВНС) вошли 18 человек (средний возраст — 30 лет) с диагностированной СДВНС. Контрольная группа (группа КГ) состояла из 16-ти человек (средний возраст — 22 года) без каких-либо патологий шейного отдела позвоночника, сердечно-сосудистых заболеваний и нарушений мозгового кровообращения.

Запись данных осуществлялась непрерывно на протяжении всех четырех этапов исследования при помощи аппаратно-программного комплекса «Реакор» («Медиком МТД», Россия) у каждого добровольца в положении сидя. Регистрацию ЭКГ в стандартном отведении проводили с помощью психофизиологического телеметрического устройства «Реакор-Г», ФПГ регистрировали с помощью фотоэлектрического датчика, устанавливаемого на мочке уха с левой стороны. На протяжении записи испытуемым предъявлялись зрительные и слуховые стимулы, изменяющиеся по типу и характеру стимуляции от этапа к этапу.

Для каждого испытуемого по данным ЭКГ была подсчитана длительность кардиоинтервала RR (ДКИ), по данным ФПГ — длительность пульсовой волны (ДПВ).

Метод диагностики изменений мозгового кровоснабжения

Метод основан на сравнении активности сердца и сосудов, где их сопоставление позволяет выявить эффективность мозгового кровоснабжения. При этом активность сердечной системы определяли на основе длительности кардиоинтервалов (ДКИ), фиксируемой электрокардиограммой, а активность сосудистой системы определяли по длительности пульсовой волны (ДПВ), фиксируемой фотоплетизмограммой.

Сопоставление сердечной и сосудистой систем осуществлялось при помощи показателей согласованности ДКИ и ДПВ, вычисляемых методом корреляционно-регрессионного анализа и являющихся коэффициентами уравнения линейной регрессии вида

$$y = k \times x + b,$$

где k — коэффициент наклона аппроксимирующей прямой, b — коэффициент смещения, а также показателей рассогласованности ДКИ и ДПВ, вычисляемых как среднеквадратичное отклонение разности между значениями ДКИ и ДПВ.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе было проведено экспериментальное исследование особенностей дифференциальных характеристик у группы СДВНС по сравнению с группой КГ с целью выяснить, какими отличительными особенностями показателей согласованной работы сердца и сосудов обладают добровольцы с нарушениями нервной регуляции сосудистого тонуса по сравнению со здоровыми добровольцами [1]. Для этого был проведен сравнительный анализ показателей между данными групп на основе непараметрического критерия Манна—Уитни, показавший наличие значимых (с уровнем значимости менее 0,05) различий.

На втором этапе было проведено экспериментальное исследование особенностей дифференциальных характеристик variability сердечного ритма у группы СПА по сравнению с группой КГ с целью выяснить, какими отличительными особенностями показателей обладают добровольцы с диагностированным механическим сдавливанием кровеносных сосудов по сравнению со здоровыми добровольцами [3]. Аналогично первому этапу, был проведен сравнительный анализ показателей на основе критерия Манна—Уитни между двумя группами испытуемых, также показавший наличие значимых различий.

На третьем этапе было проведено экспериментальное исследование особенностей показателей согласованной работы сердца и сосудов у группы СПА и группы СДВНС с целью определения отличительных особенностей в показателях у данных групп [2]. В результате проведенного анализа на основе непараметрического критерия Манна—Уитни было обнаружено наличие значимых различий среди следующих показателей: коэффициент наклона аппроксимирующей прямой, дисперсия точек аппроксимирующей прямой.

На последнем этапе в целях выявления набора показателей согласованной работы сердца и сосудов, обладающих способностью дифференцировать три группы добровольцев друг от друга, был проведен канонический дискриминантный анализ с принудительным включением. В качестве группирующей (зависимой) переменной использовали переменную, указывающую на принадлежность к одной из трех групп: группа СПА, группа СДВНС и группа КГ. В качестве независимых переменных были использованы: дисперсия между ДКИ и ДПВ (Д), среднеквадратичное отклонение ДКИ от ДПВ (СКО), коэффициент наклона аппроксимирующей прямой ДКИ и ДПВ (КН), коэффициент смещения прямой (КС),

отклонение ДКИ и ДПВ от среднего значения (ОС) и коэффициент достоверности аппроксимации (КДА). В результате проведенного дискриминантного анализа было выявлено, что дискриминантной способностью обладают следующие переменные: СКО для группы СДВНС, ОС для группы СПА и КДА для группы КГ. На основе проведенного анализа были выявлены специфичные для каждой из заданных групп паттерны значений дискриминантных переменных.

Выводы

Проведенный дискриминантный анализ показателей согласованности работы сердца и сосудов показал способность показателей к дифференциации добровольцев на группы патологий вертеброгенной и не-

вертеброгенной природы и группу здоровых добровольцев.

Был выявлен конкретный набор и особенности показателей согласованности работы сердца и сосудов, позволяющий осуществлять дифференциальную диагностику рассматриваемых патологий от нормы.

Были выявлены показатели согласованности работы сердца и сосудов при нарушении мозгового кровоснабжения неverteброгенной природы, которые могут быть использованы для различения пациентов с СДВНС от нормы.

Были выявлены показатели согласованности работы сердца и сосудов при нарушении мозгового кровоснабжения вертеброгенной природы, которые могут быть использованы для различения пациентов с СПА при ОШОП от нормы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Вартанов А.А., Николаев А.А., Чайванов Д.Б., Чудина Ю.А. Показатели согласованности и рассогласования временных характеристик ЭКГ и ФПГ у лиц с особенностями кровоснабжения головного мозга, обусловленными сужением кровеносных сосудов вследствие потери их эластичности. *Вестник психофизиологии*. 2018;3:91–100. [Vartanov A.A., Nikolaev A.A., Chajvanov D.B., Chudina Yu.A. Pokazateli soglasovannosti i rassoglasovaniya vremennykh kharakteristik JeKG i FPG u lic s osobennostyami krovosnabzheniya golovnogo mozga, обусловленными сужением кровеносных сосудов вследствие потери их эластичности [Indicators of alignment and misalignment temporal characteristics of ECG and PPG in patients with features of cerebral blood supply due to narrowing of blood vessels due to loss of their elasticity]. *Bulletin of psychophysiology*. 2018;3:91–100. (In Russian)].
2. Каркищенко Н.Н., Николаев А.А., Чудина Ю.А., Чайванов Д.Б., Вартанов А.А. Показатели согласованной работы сердца и сосудов при сосудистой патологии вертеброгенной и неverteброгенной природы. *Биомедицина*. 2020;16(2):47–59. [Karkischenko N.N., Nikolaev A.A., Chudina Yu.A., Chajvanov D.B., Vartanov A.A. Pokazateli soglasovannoy raboty serdca i sosudov pri sosudistoy patologii vertebrogennoj i nevertebrogennoj prirody [Differential diagnostics of vertebrogenic and non-vertebrogenic vascular pathologies]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2020;16(2):47–59. (In Russian)]. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-2-47-59>.
3. Чайванов Д.Б., Чудина Ю.А., Николаев А.А. Показатели варибельности сердечного ритма при остеохондрозе шейного отдела позвоночника. *Вестник психофизиологии*. 2019;2:79–85. [Chajvanov D.B., Chudina Yu.A., Nikolaev A.A. Pokazateli variabel'nosti serdechnogo ritma pri osteohondroze shejnogo otdela pozvonochnika [The indices of heart rate variability in patients with cervical spine osteochondrosis]. *Bulletin of psychophysiology*. 2019;2:79–85. (In Russian)].

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Николаев Андрей Андреевич*, Национальный исследовательский центр «Курчатовский Институт»;
e-mail: Nikolaev-AA@nrcki.ru

Andrei A. Nikolaev*, National Research Center “Kurchatov Institute”;
e-mail: Nikolaev-AA@nrcki.ru

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

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

Чудина Юлия Александровна, к.психол.н., Национальный исследовательский центр «Курчатовский Институт»;
e-mail: Chudina_YA@nrcki.ru

Yulia A. Chudina, Cand. Sci. (Psychol.), National Research Center “Kurchatov Institute”;
e-mail: Chudina_YA@nrcki.ru

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

Dmitriy B. Chajvanov, Cand. Sci. (Phys.- Math.), National Research Center “Kurchatov Institute”;
e-mail: Chayvanov_DB@nrcki.ru

Вартанов Александр Александрович, Национальный исследовательский центр «Курчатовский Институт»;
e-mail: Vartanov_AA@nrcki.ru

Alexandr A. Vartanov, National Research Center “Kurchatov Institute”;
e-mail: Vartanov_AA@nrcki.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-74-78>



НЕЙРОВИЗУАЛИЗАЦИЯ ИНТРАЦЕНТРАЛЬНЫХ ОТНОШЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КОШЕК ПОСРЕДСТВОМ НОРМАЛИЗАЦИИ ЭЛЕКТРОГРАММ ПРИ ДЕЙСТВИИ СЕМАКСА

Ю.В. Фокин*, М.М. Борисова, С.Ю. Харитонов

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

Выполнялись нормализация и нормирование БПФ-преобразованных электрограмм мозга при действии семакса. Показана адекватность подхода к оценке фармакодинамики ноотропных препаратов, оказывающих активирующее влияние на интрацентральные отношения головного мозга. Подтверждено, что высокочастотные компоненты энцефалограмм (особенно γ -диапазон) являются важнейшими показателями эффектов психотропных средств.

Ключевые слова: нейровизуализация, нормализация (нормирование), кошки, электроды, электрограммы головного мозга (ЭГМ), нормализованная ЭГМ (НЭМ), быстрое преобразование Фурье (БПФ), Семакс

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Фокин Ю.В., Борисова М.М., Харитонов С.Ю. Нейровизуализация интрацентральные отношений головного мозга кошек посредством нормализации электрограмм при действии семакса. *Биомедицина*. 2021;17(3):74–78. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-74-78>

Поступила 20.04.2021

Принята после доработки 17.05.2021

Опубликована 10.09.2021

NEUROIMAGING OF THE INTRACENTRAL BRAIN OF CATS BY NORMALIZATION OF ELECTROGRAMS UNDER THE ACTION OF SEMAX

Yuriy V. Fokin*, Mariya M. Borisova, Sergey Yu. Kharitonov

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

Normalization of FFT-transformed brain electrograms under the action of Semax was performed. The adequacy of the approach to assessing the pharmacodynamics of nootropic drugs exhibiting an activating effect on intracentral relations of the brain was shown. The high-frequency components of encephalograms (the γ -range in particular) were confirmed to be the most important indicators of the effects of psychotropic drugs.

Keywords: neuroimaging, normalization, cats, electrodes, brain electrograms, normalized brain electrograms, fast Fourier transform, Semax

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

For citation: Fokin Yu.V., Borisova M.M., Kharitonov S.Yu. Neuroimaging of the Intracentral Brain of Cats by Normalization of Electrograms under the Action of Semax. *Journal Biomed*. 2021;17(3):74–78. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-74-78>

Submitted 20.04.2021

Revised 17.05.2021

Published 10.09.2021

Введение

Семакс является одним из первых отечественных лекарственных препаратов пептидной природы, разработанных в Институте молекулярной генетики РАН. Синтетический аналог адренокортикотропного гормона, полностью лишен гормональной активности [8, 9, 10, 12]. Проявляет адаптагенное, антиоксидантное, ангиопротективное, нейротрофическое и выраженное ноотропное действие. Способствует улучшению энергетических процессов мозга, повышает устойчивость к гипобарической и сосудистой гипоксии, к стрессовым воздействиям. Он действует на функции переднего мозга: улучшает консолидацию памяти, повышает способность к обучению. Семакс не оказывает истощающего действие на ЦНС, отрицательного влияния на параметры сердечно-сосудистой и других важных систем организма, не влияет на метаболизм других лекарств, не снижает резистентность организма к психическим и физическим нагрузкам, не вызывает лекарственную зависимость, привыкание и синдром отмены [1, 2].

Фармакологическая коррекция интрацентральных отношений с помощью нейропсихоактивных средств и анализ получаемых данных посредством инновационных технологий детекции и распознавания может иметь большое значение для исследований сложных преобразований электрограммы мозга (ЭГМ), прогнозирования психоактивных свойств биологически активных соединений и их комбинаций [3, 4, 5] и повышения информативности результатов доклинических исследований.

Целью работы явилась оценка влияния и нейровизуализация эффектов психоактивного средства ноотропного действия (семакс) на интрацентральные отношения головного мозга кошек посредством анализа электрограмм, проводимого с помощью

современного высокотехнологичного оборудования и программного обеспечения.

Материалы и методы

Объектами исследований явились взрослые кошки обоего пола в возрасте более трех лет, не имеющие признаков чистопородности, массой тела 4–6 кг. Вживление электродов в головной мозг животных производилось стереотаксическим путем в виде разработанных электродных конструкций. Регистрация и анализ параметров электрограмм с последующим нормированием осуществлялись с помощью разработанных в НЦБМТ ФМБА России инновационных технических средств и программного обеспечения (микромодуль) [6, 7, 11].

Нейровизуализация параметров ЭГМ

Получаемые данные представлены на трех графиках, нанесенных на круговую векторную диаграмму и отражающих средние значения:

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

На диаграмме отмечены:

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

На диаграммах указаны все частоты ЭГМ анализируемого диапазона, и для удобства восприятия материала специалистами, привычными к традиционной форме интерпретации ЭГМ, мы разграничили частоты согласно принятой классификации на дельта — δ (1–4 Гц), тета — θ (4–8 Гц), альфа — α (8–12 Гц), сигма — σ (12–16 Гц), бета — β (16–30 Гц) и гамма — γ (30–64 Гц) — диапазоны.

Оценка нейропсихоактивных средств осуществлена с применением препарата «Семакс» — синтетический аналог кортикотропина — нейропептид, без гормональной активности (все аминокислоты L-формы). Ноотроп, улучшает когнитивные процессы, умственную работоспособность, восстановление клеток головного мозга после гипоксии, наркоза, инсульта, черепно-мозговой травмы.

Препарат применялся интраназально в эквивалентных человеку терапевтических дозах, режим регистрации параметров ЭГМ определялся согласно имеющимся фармакокинетическим и фармакодинамическим данным (C_{\max} = 5–40 мин, $T_{1/2}$ = 2–4 ч при интраназальном введении), на графиках представлены наиболее характерные результаты по обозначенным реперным точкам.

Результаты и их обсуждение

Посредством регистрации и анализа ЭГМ определены информативные параметры, свидетельствующие об изменении биоэлектрической активности мозга при действии тестируемого нейропсихоактивного средства. Результаты влияния семакса на параметры ЭГМ и НЭМ (наиболее яркие эффекты в компетентных областях мозга) представлены на рис. 1, 2.

Пиковое действие препарата наблюдается через 5 мин после введения: на ЭГМ

отмечается преобладание мощности частот около 40–43 Гц, которые по принятой классификации относятся к γ -диапазону, а также регистрируются всплески мощности частот около 5–8, 17–20 и 60–63 Гц, относящиеся к θ -, β - и γ -диапазонам соответственно. Препарат характеризуется активирующим действием, достигающим 20–100%. Элементы угнетения — в виде единичных эпизодов, на частоте около 52–56 Гц (около 5–20%). Наиболее выраженные активирующие реакции прослеживаются в переднем отделе гиппокампа, а в заднем ядре гипоталамуса, контролирующем преимущественно депримирующие процессы, наблюдается близкий к фоновому уровень активности, что отражает минимальный седативный компонент препарата.

Заключение

В действии семакса, улучшающего когнитивные функции, отмечается выраженная общая активация γ -ритма на частотах выше 40 Гц, при этом, как и у многих психостимуляторов, отмечаются незначительные депримирующие эпизоды в области 55 Гц. Наблюдаемые сходства и различия с этими областями в общем графике ЭГМ могут свидетельствовать об информативности получаемых данных в высоких частотных диапазонах, которые ранее слабо изучались.

Выраженные стабильные эффекты в ЭГМ, характеризующиеся однонаправленностью действия, совпадают с данными фармакодинамики и фармакокинетики.

Показано, что изменения параметров НЭМ, наблюдаемые при воздействии различных нейропсихоактивных средств, информативно и убедительно отражают активность анализируемых участков мозга и являются маркерами преобразований интрацентральных отношений головного мозга животных.

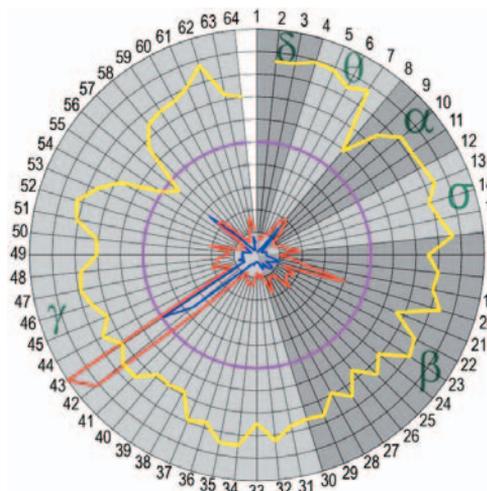


Рис. 1. Параметры ЭГМ и НЭМ в области мозга HIPa (hippocampus anterior — вентральный гиппокамп) через 5 мин после введения семакса.

Синяя кривая — фоновые измерения, красная кривая — воздействие, желтая кривая — НЭМ. Розовый контур — базисная линия нормирования. Цифровое кодирование по периметру — частоты, Гц. Круговые сектора — спектральные характеристики ЭГМ.

Fig. 1. BE and NBE parameters in the HIPa brain area (hippocampus anterior) 5 min after the administration of Semax. The blue curve — background measurements; the red curve — impact, the yellow curve — NBE. The pink contour is the baseline of valuation. Digital coding on the perimeter is the frequency, Hz. Circular sectors are the spectral characteristics of BE.

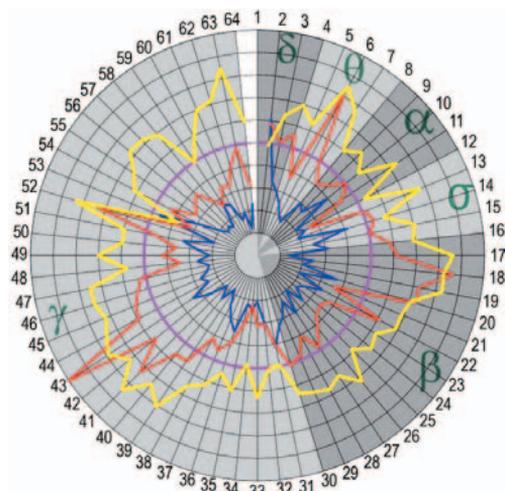


Рис. 2. Параметры ЭГМ и НЭМ в области мозга NHPp (nucleus hypophthalmicus posterior — заднее ядро гипоталамуса) через 5 мин после введения семакса.

Все обозначения — как на рис. 1.

Fig. 2. BE and NBE parameters in the NHPp brain area (nucleus hypophthalmicus posterior) 5 min after the administration of Semax.

For all designations, refer to Fig. 1.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Ашмарин И.П., Незавибатко В.Н., Мясоедов Н.Ф. и др. Ноотропный аналог адренокортикотропина 4-10-Семакс (15-летний опыт разработки и изучения). *Журнал ВНД*. 1997;47(3):420–430. [Ashmarin I.P., Nezavibat'ko V.N., Myasoedov N.F., et al. Nootropic analogue adrenokortikotropina 4-10-Semaks (15-letnij opyt razrabotki i izucheniya) [Nootropic analogue of adrenocorticotropin 4-10-Semaks (15 years of experience in development and study)]. *J. of Higher nervous activity*. 1997;47(3):420–430. (In Russian).
2. Воробьева О.В. Ноотропные препараты — новые возможности известных лекарств. *Consilium Medicum (Rheumatology and Neurology)*. 2008;10(2):7–11. [Vorobieva O.V. Nootropic preparaty — novye vozmozhnosti izvestnykh lekarstv [Nootropic drugs — new possibilities of known drugs]. *Consilium Medicum (Rheumatology and Neurology)*. 2008;10(2):7–11. (In Russian)].
3. Каркищенко Н.Н. *Альтернативы биомедицины. Т. 2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии*. М.: Изд-во ВПК, 2007:448. [Karkischenko N.N. *Alternativy biomeditsiny. T. 2. Klassika i alternativny farmakotoksikologii [Alternatives to biomedicine. Vol. 2. Classics and alternatives to pharmacotoxicology]*. Moscow: VPK Publ., 2007:448. (In Russian)].
4. Каркищенко Н.Н. *Психонитропизм лекарственных средств*. М.: Медицина, 1993:208. [Karkischenko N.N. *Psikhonitropizm lekarstvennykh sredstv [Psychonitropism of medicines]*. Moscow: Medicina Publ., 1993:208. (In Russian)].
5. Каркищенко Н.Н. *Фармакология системной деятельности мозга*. Ростов: Ростиздат, 1975:152. [Karkischenko N.N. *Farmakologiya sistemnoj deyatelnosti mozga [Pharmacology of systemic activity of the brain]*. Rostov: Rostizdat Publ., 1975:152. (In Russian)].

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 validatsiya intratsentral'nykh otnoshenij golovnoogo mozga zhivotnykh [Convergent validation of intracerebral relationships of the brain of animals]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 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'nykh otnoshenij po pokazatelyam operantnogo povedeniya i ehlektrogramm mozga koshek [New approaches to the assessment of intracerebral relations in terms of operant behavior and electrograms of the cats brain]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2018;4:4–17. (In Russian)].
8. Ковалев Г.В., Музыченко А.П. Применение ноотропных средств в психиатрии и наркологии. *Ноотропные средства*. Волгоград, 1990:217–294. [Kovalev G.V., Muzychenko A.P. Primenenie nootropnykh sredstv v psixiatrii i narkologii [The use of nootropic drugs in psychiatry and narcology]. *Nootropic drugs*. Volgograd, 1990:217–294. (In Russian)].
9. *Справочник Видаль: Лекарственные препараты в России*. М.: АстраФармСервис, 2002:1488. [Spravochnik Vidal': Lekarstvennyye preparaty v Rossii [Vidal Handbook: Medicines in Russia]. Moscow: AstraFarmServis Publ., 2002:1488. (In Russian)].
10. *Неврология. Национальное руководство*. Под ред. Е.И. Гусева, А.Н. Коновалова, В.И. Скворцовой, А.Б. Гехт. 2-е изд., перераб. и доп., в двух томах. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018–2019. [Neurology. National leadership. Ed. by E.I. Gusev, A.N. Kononov, V.I. Skvortsova, A.B. Hecht. 2nd ed., revised and enlarged, in two vol. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 2018–2019. (In Russian)].
11. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. Под ред. Н.Н. Каркищенко и др. М.: Профиль-2С, 2010:358. [Rukovodstvo po laboratornym zhivotnym i al'ternativnym modelyam v biomeditsinskikh issledovaniyakh [Manual on laboratory animals and alternative models in biomedical research]. Ed. by N.N. Karkischenko, et al. Moscow: Profil'-2S Publ., 2010:358. (In Russian)].
12. Скворцова В.И., Стаховская Л.В., Ефремова Н.М., Шамалов Н.А., Шетова И.М. *Применение нейропротектора «Семакс 1%» в первые часы и дни острого церебрального инсульта. Метод. реком. для практического здравоохранения*. М., 2011:44. [Skvortsova V.I., Stakhovskaya L.V., Efremova N.M., Shamalov N.A., Shetova I.M. Primenenie nejroprotektora «Semaks 1%» v pervye chasy i dni ostrogo tserеbral'nogo insulta. Metod. rekom. dlya prakticheskogo zdoravoohraneniya. M., 2011:44. [Skvortsova V.I., Stakhovskaya L.V., Efremova N.M., Shamalov N.A., Shetova I.M. Primenenie nejroprotektora «Semaks 1%» v pervye chasy i dni ostrogo cerebral'nogo insulta [Application of the neuroprotector “Semax 1%” in the first hours and days of acute cerebral stroke]. Methodical recommendations for practical health care. Moscow, 2011:44. (In Russian)].

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

Борисова Мария Михайловна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: borisova_mm@mail.ru

Харитонов Сергей Юрьевич, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: zetroks5@gmail.com

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

Mariya M. Borisova, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: borisova_mm@mail.ru

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

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

S-БЕЛОК ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА *LACTOBACILLUS CRISPATUS* 2029 ПРЕДОТВРАЩАЕТ РОСТ ПРОНИЦАЕМОСТИ МОНОСЛОЯ САСО-2 ЭНТЕРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА, ИНДУЦИРУЕМЫЙ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

И.В. Косарев¹, Р.Н. Василенко¹, В.М. Абрамов¹, В.К. Сакулин¹, В.С. Хлебников¹,
С.Ю. Пчелинцев¹, А.В. Мачулин^{2*}, Т.Н. Абашина², В.А. Самойленко²,
В.Н. Уверский³, А.В. Карлышев⁴

¹ ОАО «Институт инженерной иммунологии»
142380, Российская Федерация, Московская обл., Чеховский р-н, п. Любучаны, ул. Научная, 1

² ФГБУН «Федеральный исследовательский центр
«Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пушкино, просп. Науки, 3

³ Университет Южной Флориды
33620, США, Флорида, Тампа, Охотников Восточный просп., 4202

⁴ Кингстонский университет в Лондоне
KT1 1LQ, Великобритания, Лондон, Кингстон на Темзе, Главная ул., 53–57

Использование биомодели конфлюэнтного монослоя Сасо-2 энтероцитов позволило выявить у S-белка, выделенного из штамма LC2029, наличие способности предотвращать индуцированные возбудителями кишечных инфекций (*E. coli* O157:H7, *C. jejuni* ATCC 33291, *S. enteritidis* ATCC 25928) нарушения проницаемости — важной функции кишечного барьера.

Ключевые слова: биомодель, монослой Сасо-2 энтероцитов, проницаемость, S-белок, возбудители кишечных инфекций

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Косарев И.В., Василенко Р.Н., Абрамов В.М., Сакулин В.К., Хлебников В.С., Пчелинцев С.Ю., Мачулин А.В., Абашина Т.Н., Самойленко В.А., Уверский В.Н., Карлышев А.В. S-белок пробиотического штамма *Lactobacillus crispatus* 2029 предотвращает рост проницаемости монослоя Сасо-2 энтероцитов человека, индуцируемый возбудителями кишечных инфекций. *Биомедицина*. 2021;17(3): 79–83. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-79-83>

Поступила 08.04.2021

Принята после доработки 23.07.2021

Опубликована 10.09.2021

S-PROTEIN OF THE PROBIOTIC STRAIN *LACTOBACILLUS CRISPATUS* 2029 PREVENTS THE GROWTH OF PERMEABILITY OF THE CACO-2 MONOLAYER OF HUMAN ENTEROCYTES INDUCED BY INTESTINAL INFECTIONS

Igor V. Kosarev¹, Raisa N. Vasilenko¹, Vyacheslav M. Abramov¹,
Vadim K. Sakulin¹, Valentin S. Khlebnikov¹, Sergey Yu. Pchelintsev¹,
Andrey V. Machulin^{2*}, Tatiana N. Abashina², Vladimir A. Samoilenko²,
Vladimir N. Uversky³, Andrey V. Karlyshev⁴

¹ Institute of Immunological Engineering
142380, Russian Federation, Moscow Region, Chekhov District, Lyubuchany, Nauchnaya Str., 1

² Federal Research Center
"Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences"
142290, Russian Federation, Moscow region, Pushchino, Science Avenue, 3

³ University of South Florida
33620, USA, Florida, Tampa, E. Fowler Avenue, 4202

⁴ Kingston University London
KT1 1LQ, Great Britain, London, Surrey, Kingston upon Thames, High Str., River House, 53–57

The use of a biomodel of the confluent monolayer Caco-2 of enterocytes allowed us to reveal the ability of the S-protein isolated from strain LC2029 to prevent permeability disorders resulting from intestinal infections induced by pathogens (*E. coli* O157: H7, *C. jejuni* ATCC 33291, *S. enteritidis* ATCC 25928). This is important for maintaining the efficiency of the intestinal barrier.

Keywords: biomodel, monolayer of Caco-2 enterocytes, permeability, S-protein, causative agents of intestinal infections

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

For citation: Kosarev I.V., Vasilenko R.N., Abramov V.M., Sakulin V.K., Khlebnikov V.S., Pchelintsev S. Yu., Machulin A.V., Abashina T.N., Samoilenko V.A., Uversky V.N., Karlyshev A.V. S-Protein of the Probiotic Strain *Lactobacillus crispatus* 2029 Prevents the Growth of Permeability of the Caco-2 Monolayer of Human Enterocytes Induced by Intestinal Infections. *Journal Biomed.* 2021;17(3):79–83. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-79-83>

Submitted 08.04.2021

Revised 23.07.2021

Published 10.09.2021

Введение

Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) с уникальным свойством слизистой оболочки поглощать питательные вещества из содержимого кишечника и колонизирующее его сообщество микроорганизмов в настоящее время представляется как высокоорганизованная система, от которой зависит не только здоровье, но и сама жизнь человека. У взрослого человека микробиота ЖКТ представлена примерно 10^{14} микробных клеток, что составляет до 40% общего

числа микроорганизмов всего микробиома, причем примерная общая поверхность ЖКТ составляет 250–400 м². В кишечнике микробиота подразделяется на пристеночную и просветную. Пристеночная микробиота тесно связана с эпителиальными клетками стенки кишечника. Однако ряд вредных воздействий приводит к замещению нормальной микробиоты кишечника патогенными микроорганизмами.

Адгезия патогенной микрофлоры на энтероцитах кишечника является ключевым

этапом в развитии многих инфекционных заболеваний. Возбудители таких инфекций повреждают энтероциты и повышают проницаемость кишечного барьера, что приводит к развитию многих патологических процессов в организме, связанных с неконтролируемой транслокацией патогенов и их продуктов через слизистую оболочку кишечника. Нормальная микрофлора и, в частности, пробиотические лактобациллы, защищают макроорганизм от патогенных микробов, блокируя их адгезию к рецепторам эпителиальных клеток. В результате этого сохраняется кишечный барьер, не повышается его проницаемость и деструкция, предотвращается колонизация слизистых оболочек патогенами.

Известно, что некоторые штаммы лактобацилл экспрессируют S-белки на своей поверхности. Способность S-белков пробиотических лактобацилл препятствовать повышению кишечной проницаемости, индуцируемой возбудителями кишечных инфекций, не изучена.

Целью данной работы явилось исследование *in vitro* способности S-белка штамма *Lactobacillus crispatus* 2029 (LC2029) ингибировать рост проницаемости слизистой оболочки кишечника, вызываемый возбудителями кишечных инфекций: *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter jejuni* ATCC 33291, *Salmonella Enteritidis* ATCC 25928.

Материалы и методы

В опытах использовали S-белок штамма LC2029. Адгезивная активность штамма LC2029 связана с его способностью экспрессировать на своей поверхности S-белок, являющийся высокоэффективным адгезином [1]. Удаление S-белка с поверхности клеток LC2029 с помощью 5M LiCl приводило к утрате способности модифицированных клеток этого штамма к адгезии на энтероцитах человека.

Протективные свойства S-белка, выделенного из штамма LC2029, оценивали по методу, предложенному в работе [2]. В опытах использовали *in vitro* биомодель монослоя Сасо-2 энтероцитов. Сасо-2 энтероциты культивировали на специальных фильтрах системы Transwell (Corning Costar). После достижения клетками 100% конфлюэнтного монослоя меняли среду, содержащую 10% сыворотки, на среду с 0,2% сыворотки. Монослой культивировали дополнительно 18 ч для синхронизации клеточного цикла. Далее исследовали проницаемость монослоя Сасо-2 энтероцитов для ТРИТЦ-декстрана (65–85 кДа) под действием S-белка (контроль 1), *E. coli* O157:H7 (контроль 2), *C. jejuni* ATCC 33291 (контроль 3), *S. enteritidis* ATCC 25928 (контроль 4), S-белок+*E. coli* O157:H7 (опыт 1), S-белок+*C. jejuni* ATCC 33291 (опыт 2), S-белок+*S. enteritidis* ATCC 25928 (опыт 3). В культуральную среду верхней камеры вносили ТРИТЦ-декстран (1 мг/мл, 65–85 кДа). Количество ТРИТЦ-декстрана в нижней камере, прошедшего через монослой Сасо-2 клеток, определяли флуориметрически при длине волны 485/590нм.

Результаты и заключение

Было установлено, что предварительно внесённый S-белок штамма LC2029 в культуральную среду верхней камеры системы Transwell экранирует монослой Сасо-2 энтероцитов и предотвращает индуцированный возбудителями кишечных инфекций (*E. coli* O157:H7, *C. jejuni* ATCC 33291, *S. enteritidis* ATCC 25928) рост проницаемости монослоя. При отсутствии в культуральной среде S-белка, экранирующего поляризованный монослой Сасо-2 энтероцитов, внесение в верхнюю камеру системы Transwell возбудителей кишечных инфекций вызывало достоверное ($p < 0,001$) повышение проницаемости монослоя Сасо-2 энтероцитов для ТРИТЦ-декстрана.

Таким образом, использование биомодели конглоэнтного монослоя Сасо-2 энтероцитов позволило выявить у S-белка, выделенного из штамма LC2029, наличие способности предотвращать индуцирован-

ные возбудителями кишечных инфекций (*E. coli* O157:H7, *C. jejuni* ATCC 33291, *S. enteritidis* ATCC 25928) нарушения проницаемости — важной функции кишечного барьера.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Abramov V.M., Kosarev I.V., Pripitnevich T.V., et al. S-layer protein of *Lactobacillus crispatus* 2029, its structural and immunomodulatory characteristics and roles in protective potential of the whole bacteria against foodborne pathogens. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020;150:400–412.
2. Chen C., Jamaluddin M., Yan S., et al. Human stanniocalcin-1 blocks TNF-induced monolayer permeability in human coronary artery endothelial cells. *Atherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biol.* 2008. DOI: 10.1161/ATVBAHA.108.163667.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Косарев Игорь Васильевич, к.б.н., ОАО «Институт инженерной иммунологии»;
e-mail: kosarev-52@mail.ru

Igor V. Kosarev, Cand. Sci. (Biol.), Institute of Immunological Engineering;
e-mail: kosarev-52@mail.ru

Василенко Раиса Николаевна, к.б.н., ОАО «Институт инженерной иммунологии»;

Raisa N. Vasilenko, Cand. Sci. (Biol.), Institute of Immunological Engineering;

Абрамов Вячеслав Михайлович, д.б.н., проф., ОАО «Институт инженерной иммунологии»;
e-mail: slavab2017@mail.ru

Vyacheslav M. Abramov, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Institute of Immunological Engineering;
e-mail: slavab2017@mail.ru

Сакулин Вадим Константинович, ОАО «Институт инженерной иммунологии»;

Vadim K. Sakulin, Institute of Immunological Engineering;

Хлебников Валентин Сергеевич, д.б.н., проф., ОАО «Институт инженерной иммунологии»;
e-mail: vkhleb@mail.ru

Valentin S. Khlebnikov, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Institute of Immunological Engineering;
e-mail: vkhleb@mail.ru

Пчелинцев Сергей Юрьевич, д.м.н., проф., ОАО «Институт инженерной иммунологии»;
e-mail: serg.pch@yandex.ru

Sergey Yu. Pchelintsev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Institute of Immunological Engineering;
e-mail: serg.pch@yandex.ru

Мачулин Андрей Валериевич*, к.б.н., ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»;
e-mail: and.machul@gmail.com

Andrey V. Machulin*, Cand. Sci. (Biol.), Federal Research Center “Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences”;
e-mail: and.machul@gmail.com

Абашина Татьяна Николаевна, к.б.н., ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»;
e-mail: tnabashina@gmail.com

Tatiana N. Abashina, Cand. Sci. (Biol.), Federal Research Center “Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences”;
e-mail: tnabashina@gmail.com

Самойленко Владимир Александрович, к.б.н., ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований РАН»;
e-mail: samva@rambler.ru

Уверский Владимир Николаевич, д.ф.-м.н., проф., Университет Южной Флориды;
e-mail: vuversky@usf.edu

Карлышев Андрей Владимирович, к.б.н., проф., Кингстонский университет в Лондоне;
e-mail: a.karlyshev@kingston.ac.uk

Vladimir A. Samoilenko, Cand. Sci. (Biol.), Federal Research Center “Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences”;
e-mail: samva@rambler.ru

Vladimir N. Uversky, Dr. Sci. (Phys.-Math.), Prof., University of South Florida;
e-mail: vuversky@usf.edu

Andrey V. Karlyshev, Cand. Sci. (Biol.), Prof., Kingston University London;
e-mail: a.karlyshev@kingston.ac.uk

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-84-89>

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ПРЯМОГО ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛЕГКИХ У КРЫС, ВЫЗВАННОГО ИНТРАТРАХЕАЛЬНЫМ ВВЕДЕНИЕМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *SALMONELLA ENTERICA*

В.А. Пугач*, М.А. Тюнин, Н.С. Ильинский, Е.В. Левчук, Е.И. Строкина, А.А. Ельцов

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

В настоящем исследовании разработана экспериментальная модель прямого острого повреждения легких посредством однократного интратрахеального введения липополисахарида *Salmonella enterica* в дозе ЛД₅₀ (20 мг/кг). Прослежена динамика гибели животных, массы и температуры тела, а также выраженность патоморфологических проявлений в ткани легких. Установлено, что разработанная модель характеризуется прогрессирующим снижением массы тела на 15%, развитием стойкой гипотермической реакции, выраженного отека и воспалительной реакции в ткани легких в течение первых 4-х суток после введения липополисахарида. Разработанная экспериментальная модель острого повреждения легких проста в исполнении, стабильно воспроизводится и может быть использована в доклинических исследованиях по поиску и оценке эффективности кандидатных препаратов для профилактики и лечения острого респираторного дистресс-синдрома.

Ключевые слова: острый респираторный дистресс-синдром, острое повреждение легких, липополисахарид, биомоделирование, доклинические исследования

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Пугач В.А., Тюнин М.А., Ильинский Н.С., Левчук Е.В., Строкина Е.И., Ельцов А.А. Экспериментальная модель прямого острого повреждения легких у крыс, вызванного интратрахеальным введением липополисахарида *Salmonella enterica*. *Биомедицина*. 2021;17(3):84–89. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-84-89>

Поступила 16.04.2021

Принята после доработки 20.04.2021

Опубликована 10.09.2021

AN EXPERIMENTAL MODEL OF DIRECT ACUTE LUNG INJURY IN RATS CAUSED BY INTRATRACHEAL ADMINISTRATION OF LIPOPOLYSACCHARIDE FROM *SALMONELLA ENTERICA*

Victoria A. Pugach*, Mikhail A. Tyunin, Nikita S. Ilinskiy, Elena V. Levchuk,
Elena I. Strokina, Anatoly A. Eltsov

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

An experimental model of direct acute lung injury was developed by intratracheal administration of lipopolysaccharide from *Salmonella enterica* (LD₅₀ = 20 mg/kg). The dynamics of animal lethality, body weight, temperature and the severity of pathomorphological changes in the lung tissue were analyzed. It was found that the developed model is accompanied by a progressive decrease in body weight by 15%, persistent hypothermic reaction, pronounced edema and inflammatory reaction in the lung tissue within

4 days following lipopolysaccharide administration. The simplicity and reproducibility of the developed experimental model make it useful for preclinical research aimed at selection of candidate drugs for the prevention and treatment of acute respiratory distress syndrome.

Keywords: acute respiratory distress syndrome, acute lung injury, lipopolysaccharide, biomodelling, pre-clinical research

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

For citation: Pugach V.A., Tyunin M.A., Ilinskiy N.S., Levchuk E.V., Strokina E.I., Eltsov A.A. An Experimental Model of Direct Acute Lung Injury in Rats Caused by Intratracheal Administration of Lipopolysaccharide from *Salmonella enterica*. *Journal Biomed.* 2021;17(3):84–89. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-84-89>

Submitted 16.04.2021

Revised 20.04.2021

Published 10.09.2021

Введение

Несмотря на интенсивное развитие фармакологии и фармацевтики, эффективность современных лекарственных средств, применяемых для лечения острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), остается низкой. Частота развития ОРДС при прямом повреждении легких составляет около 20%, а летальность достигает 40–50%. Высокая актуальность исследований по поиску новых эффективных средств и схем фармакологической терапии ОРДС, вызванного прямым повреждением легких, обуславливает необходимость разработки легко воспроизводимых экспериментальных моделей, характеризующихся типовыми изменениями показателей общего состояния животных, структуры и функции легких. Существующие модели ОРДС отличаются рядом недостатков, главным из которых является широкая вариабельность степени повреждения легких из-за сложности дозирования повреждающего фактора и его неравномерного распределения на уровне нижних дыхательных путей [1]. Данная проблема особенно актуальна для исследований с использованием мелких лабораторных животных, поскольку для стандартизованного ингаляционного введения индукторов острого повреждения легких (ОПЛ) требуются дорогостоящие генераторы аэрозоля, обеспечивающие максималь-

но эффективное осаждение аэрозольных частиц на уровне нижних дыхательных путей. В связи с этим в качестве альтернативного варианта для моделирования прямого ОПЛ используют интратрахеальное (и/т) введение таких индукторов, как липополисахариды, блеомицин и др. Вместе с тем типовых моделей с использованием и/т введения липополисахарида (ЛПС), предназначенных для поиска и оценки эффективности кандидатных препаратов для профилактики и лечения ОРДС, до настоящего времени не разработано.

Целью исследования стала разработка модели прямого ОПЛ путем и/т введения ЛПС в дозе LD_{50} .

Материалы и методы

Работа выполнена на 65-ти белых беспородных крысах-самцах массой тела 310–350 г (питомник «Рапполово», Ленинградская обл.). ОПЛ моделировали посредством и/т введения ЛПС клеточной стенки бактерии *Salmonella enterica* («Sigma-Aldrich») в дозе LD_{50} (20 мг/кг). Объем введения составлял 1,5 мл/кг. Растворитель — р-р фосфатно-солевого буфера (рН=7,4). Перед выполнением и/т введения животных наркотизировали с помощью внутривентрального введения препарата «Золетил 100» в дозе

4,0 мг/кг. Процедуру и/т введения осуществляли через 5 мин после наркотизации и проверки глубины наркоза с помощью зонда для крыс («MicroSprayer®» Aerosolizer, модель IA-1B, США). В качестве контроля использовали животных после и/т введения фосфатно-солевого буфера в аналогичном объеме. Измерение массы и температуры тела крыс осуществляли ежедневно в течение 14-ти сут. Для оценки выраженности отека легких рассчитывали массовый коэффициент (МК) (отношение массы легочного комплекса к массе животного). Образцы легких фиксировали в 10% р-ре забуференного формалина и заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Статистическую обработку результатов проводили методами непараметрической статистики в программе Statistica 10.0. Результаты исследования приведены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей — Me [Q1; Q3]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для оценки динамики показателей в качестве фоновых значений использовали данные измерений, полученные за день до моделирования ОПЛ.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследований представлены в табл. 1 и 2. Гибель животных после и/т введения ЛПС регистрировали в период с 12-ти ч до 4-х сут. С целью расчета среднего эффективного времени гибели использовали логарифмическое уравнение регрессии, полученное на основе кумулятивного графика времени гибели животных. Значение искомого параметра составило $29,1 \pm 3,05$ ч.

В группе контроля у животных наблюдали стабильный прирост массы тела в течение всего периода наблюдения, который в итоге составил 7,4% ($p < 0,05$). Измерение температуры тела позволило выявить незначительные колебания показателя, которые не имели статистической значимости.

У опытных животных в течение 1–5-х сут после и/т введения ЛПС отмечали снижение массы тела относительно фоновых величин на 12,1–15,5% ($p < 0,05$). Через 6 сут наблюдения у выживших животных регистрировали положительную динамику массы тела в виде стабильного и равномерного прироста показателя. На 14-е сут эксперимента масса тела крыс после ЛПС-индуцированного повреждения легких восстанавливалась до уровня фоновых значений. Следует отметить, что в течение всего периода наблюдения масса тела опытных животных статистически значимо отличалась от значений показателя у контрольных животных. В течение первых 4-х сут после и/т введения ЛПС регистрировали стойкую гипотермическую реакцию. Уже через 3 ч после моделирования ОПЛ отмечали резкое снижение температуры тела на $3,7^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$) относительно фоновых значений. Далее динамика температуры тела характеризовалась постепенным повышением показателя, в результате чего температура тела достигала уровня фоновых значений к исходу 5-х сут наблюдения.

Измерение МК легких и проведение гистоморфологического исследования позволило проследить характерную динамику развития патологического процесса в ткани легких в течение 4-х сут после моделирования ОПЛ. Через 6 ч после введения ЛПС МК опытных животных увеличился в 1,5 раза относительно животных в контрольной группе. К исходу 4-х сут МК у животных с ЛПС-индуцированным повреждением легких оставался на уровне 8,89 [7,72;10,11], что в 1,6 раза превышало значения показателя у контрольных животных (5,51 [4,93;6,46]). Через 3–6 ч после введения ЛПС в паренхиме легких уже отмечали выраженные патологические изменения: развитие интерстициального и внутриальвеолярного отека, кровоизлияния и массивную лейкоцитарную инфильтрацию всех структурных компонентов паренхимы

Таблица 1. Показатели летальности, массы и температуры тела в группах экспериментальных животных в течение 1–5 сут наблюдения
Table 1. Indicators of mortality, weight and body temperature in groups of experimental animals during 1–5 days of observation

Группа животных-ных	Фон	Срок наблюдения						
		3 сут	4 сут	6 сут	12 сут	1 сут		
Гибель (опыт)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	1/20 (5%)	1/20 (5%)	9/20 (40%)	10/20 (50%)	11/20 (55%)	11/20 (55%)
Масса тела, г								
Контроль	325 [310;339]	–	–	328 [312;345]	327 [313;343]	330 [310; 349]	330 [314;345]	335 [314;345]
Опыт	330 [310;346]	–	–	290*# [280;315]	286*# [261;298]	281*# [254;298]	280*# [257;301]	285*# [257;303]
Температура тела, °С								
Контроль	37,0 [36,8;37,3]	37,5 [37,3;37,6]	37,1 [36,8;37,4]	37,4 [37,0;37,5]	37,0 [36,7;37,3]	37,2 [36,9;37,4]	37,0 [36,7;37,1]	37,5 [37,0;37,6]
Опыт	37,4 [36,8;37,5]	33,5*# [33,1;34,0]	34,7*# [34,0;35,2]	35,7*# [34,8;36,3]	35,8*# [34,9;36,2]	35,4*# [34,6;35,6]	36,5*# [35,4;36,7]	37,3 [36,7;37,5]

Таблица 2. Показатели летальности, массы и температуры тела в группах экспериментальных животных в течение 6–14 сут наблюдения
Table 2. Indicators of mortality, weight and body temperature in groups of experimental animals during 6–14 days of observation

Группа живот-ных	Срок наблюдения							
	6 сут	7 сут	8 сут	9 сут	10 сут	11 сут	12 сут	
Гибель (опыт)	11/20 (55%)							
Масса тела, г								
Контроль	337 [320; 349]	336 [319;352]	338 [320;356]	340* [322;355]	340* [320;356]	345* [325;349]	344* [326;345]	349* [330;354]
Опыт	286# [249;311]	295# [255;319]	291# [254;322]	296# [256;331]	298# [257;329]	306# [261;334]	308# [262;339]	313# [266;339]
Температура тела, °С								
Контроль	36,9 [36,8;37,1]	37,3 [37,0;37,5]	37,8 [37,5;37,9]	37,1 [36,7;37,4]	37,2 [37,0;37,4]	37,0 [36,9;37,3]	37,5 [37,2;37,6]	37,4 [37,2;37,5]
Опыт	37,0 [36,7;37,3]	37,2 [36,9;37,5]	37,4 [36,8;37,6]	36,7 [36,6;37,5]	37,0 [36,7;37,5]	37,0 [36,8;37,4]	37,3 [37,0;37,6]	37,7 [37,3;37,9]

Примечание: * — различия статистически значимы относительно фоновых значений ($p < 0,05$, критерий Фридмана); # — различия статистически значимы относительно группы контрольных животных ($p < 0,05$, критерий Манна—Уитни).

Note: * — differences are statistically significant relative to the baseline values ($p < 0,05$, Friedman's test); # — differences are statistically significant relative to the control ($p < 0,05$, Mann-Whitney test).

легких. Через 12–24 ч после воздействия ЛПС у опытных животных прогрессировали патологические изменения в паренхиме легких, обусловленные усилением альвеолярного отека. Около 2/3 ее объема было представлено безвоздушной паренхимой с тотальным внутриальвеолярным отеком и кровоизлияниями. На 4-е сут после моделирования ОПЛ в патологически измененных участках легких просматривались пролиферативные процессы, направленные на элиминацию отека и клеточную репарацию эпителия респираторных и воздухоносных путей. Прежде всего, исчезали проявления паравазального отека и увеличивалось количество инфильтрата в виде активных форм макрофагов, лимфоцитов и эозинофильных лейкоцитов.

Выводы

Разработанная модель прямого ОПЛ характеризуется прогрессирующим снижением массы тела на 15%, развитием стойкой гипотермической реакции, выраженного отека и воспалительной реакции в ткани легких животных в течение первых 4-х сут после введения ЛПС в дозе ЛД₅₀. Простота исполнения, высокая воспроизводимость и наличие простых количественных критериев (масса тела, температура тела, количество погибших животных, массовый коэффициент легких) позволяет рекомендовать данную модель ОПЛ для проведения доклинических исследований, направленных на поиск и оценку эффективности кандидатных препаратов для профилактики и лечения ОРДС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Yehya N. Lessons learned in acute respiratory distress syndrome from the animal laboratory.

Ann Transl Med. 2019;7(19):503. DOI: 10.2103/atm.2019.09.33.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Пугач Виктория Александровна*, к.б.н., ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Минобороны России;
e-mail: gniiivm_7@mil.ru

Victoria A. Pugach*, Cand. Sci. (Biol.), State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of Russia;
e-mail: gniiivm_7@mil.ru

Тюнин Михаил Александрович, к.м.н., ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Минобороны России

Mikhail A. Tyunin, Cand. Sci. (Med.), State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of Russia

Ильинский Никита Сергеевич, ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Минобороны России

Nikita S. Iinskiy, State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of Russia

Левчук Елена Владимировна, «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Минобороны России

Elena V. Levchuk, State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of Russia

Строкина Елена Игоревна, ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Минобороны России

Elena I. Strokina, State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of Russia

Ельцов Анатолий Анатольевич, ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Минобороны России

Anatoly A. Eltsov, State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of Russia

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-90-94>

МОДЕЛЬ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ЗОЛОТИСТЫХ СИРИЙСКИХ ХОМЯЧКОВ: ОСНОВНЫЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ

С.В. Чепур, В.А. Мясников, М.А. Тюнин, Н.С. Ильинский, А.С. Никишин*,
А.А. Исаева, В.А. Шевченко

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

В работе представлены данные динамики массы тела и массового коэффициента легких у золотистых сирийских хомячков после заражения вирусом SARS-CoV-2. Установлено, что наиболее выраженные изменения изученных показателей развиваются на 7-е сут заболевания. Также в рамках исследования продемонстрированы основные гистопатологические изменения в легких в период максимально выраженной манифестации заболевания.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, сирийские хомячки, экспериментальная модель

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Чепур С.В., Мясников В.А., Тюнин М.А., Ильинский Н.С., Никишин А.С., Исаева А.А., Шевченко В.А. Модель новой коронавирусной инфекции у золотистых сирийских хомячков: основные патологические изменения. *Биомедицина*. 2021;17(3): 90–94. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-90-94>

Поступила 16.04.2021

Принята после доработки 20.04.2021

Опубликована 10.09.2021

A MODEL OF A NOVEL CORONAVIRUS INFECTION IN GOLDEN SYRIAN HAMSTERS: MAJOR PATHOLOGICAL CHANGES

Sergey V. Chepur, Vadim A. Myasnikov, Mikhail A. Tyunin, Nikita S. Ilinskiy,
Alexandr S. Nikishin*, Anastasia A. Isaeva, Valentin A. Shevchenko

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

The paper presents data on the dynamics of body weight and mass coefficient of lungs in golden Syrian hamsters after infection with the SARS CoV-2 virus. It was found that the most pronounced deviations of the studied parameters develop on the 7th day of the disease. The study also demonstrates the main histopathological changes in the lungs during this period of the disease.

Key words: SARS-CoV-2, syrian golden hamster, experimental model

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

For citation: Chepur S.V., Myasnikov V.A., Tyunin M.A., Ilinskiy N.S., Nikishin A.S., Isaeva A.A., Shevchenko V.A. A Model of a Novel Coronavirus Infection in Golden Syrian Hamsters: Major Pathological Changes. *Journal Biomed*. 2021;17(3):90–94. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-90-94>

Submitted 16.04.2021

Revised 20.04.2021

Published 10.09.2021

Введение

В условиях пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19) особую актуальность приобрели задачи по разработке и изучению новых средств профилактики и терапии данной нозологии. Их решение сопровождается созданием большого числа перспективных фармакологических субстанций, требующих быстрой и надежной оценки эффективности. На сегодняшний день общепризнанной и наиболее популярной для изучения COVID-19 является экспериментальная модель с использованием сирийских хомячков, однако особенностью течения инфекционного процесса у данного вида животных является отсутствие гибели [1, 2]. В связи с этим для изучения влияния вакцинных препаратов и лекарственных средств на динамику заболевания крайне важно установление значимых отклонений биометрических, гравиметрических и морфологических показателей. При этом, учитывая большое значение патологических изменений в дыхательной системе при COVID-19 в прогнозе заболевания, определение закономерностей поражений легких требует особого внимания.

Цель исследования — оценить характер основных патологических изменений, вызванных вирусом SARS-CoV-2, у золотистых сирийских хомячков.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование выполнено на золотистых сирийских хомячках-самцах массой 80–100 г, полученных из питомника ЗАО «НПО “Дом фармации”» (Санкт-Петербург). Лабораторных животных содержали в стандартных условиях вивария с соблюдением 12-часового светового дня, температурного режима, соответствующего 20–24 °С, свободного доступа к корму и воде. В ходе исследования соблюдали требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы

с использованием животных, в т.ч. по гуманному отношению к ним.

Заражение сирийских хомячков осуществляли путём однократного интраназального введения предварительно наркотизированному животному (р-р «Золетил 100» в дозе 40 мг/кг внутривентриально) 26 мкл культуры, содержащей вирус SARS-CoV-2 в 4×10^4 средней тканевой цитопатической инфекционной дозе (ТЦИД₅₀).

Динамическое наблюдение за животными осуществляли ежедневно в течение 14-ти сут или до момента эвтаназии, сроки которой для части животных были установлены на 3-и, 7-е или 14-е сут после заражения.

Измерение массы тела сирийских хомячков проводили в утренние часы с помощью весов «AND NP-2000s» (Япония).

Эвтаназию сирийских хомячков проводили передозировкой общего анестетика (раствор «Ксила» 20,0 мг/мл и раствор «Золетил 100» 50,0 мг/мл, в соотношении 1:1, в объеме 1,0 мл на 1,0 кг массы тела, внутримышечно) с последующим обескровливанием путем пересечения нижней полой вены. После чего осуществляли извлечение правого легкого и полученный образец ткани фиксировали в 10% р-ре нейтрального формалина, проводили через спирты и заливали в парафин по стандартной методике приготовления гистологических препаратов. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Регистрацию изменений структуры тканей осуществляли на цифровом фотомикроскопе Leica DM2500 при увеличениях объектива $\times 20$ –100.

Статистический анализ результатов экспериментальных исследований проводили при помощи пакетов программ Statistica 10 в операционной среде Windows 7. Полученные данные анализировали при помощи непараметрических методов: для несвязанных выборок применяли критерий Манна — Уитни, для множественных сравнений связанных выборок —

Фридмана. В тексте представлены медиана, верхний и нижний квартиль — Ме [Q1; Q3]. Вывод о статистической значимости различий делали при $p < 0,05$. Сравнение проводили с характеристиками животных группы виварного контроля.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что заражение вирусом SARS-CoV-2 сирийских хомячков приводит к потере массы тела (рис. 1). При этом статистически значимые различия при сравнении с группой виварного контроля были установлены на 1-е сут после заражения и сохранялись в течение всего периода наблюдения. Показано, что наиболее выраженные отклонения от фоновых данных, достигающие 7,0%, определяли на 5–7-е сут заболевания. К исходу 14-х сут масса тела лабораторных животных, заражённых вирусом

SARS-CoV-2, по-прежнему оставалась сниженной в среднем на 1,3–2,0%.

На 7-е сут после заражения по данным гистологического исследования были установлены признаки интерстициального воспаления и альвеолита, сопровождающегося умеренным межальвеолярным отёком и расширением межальвеолярных перегородок за счёт клеточного компонента. Также наблюдалось неравномерное полнокровие легких, стаз эритроцитов, тромбообразование. На фоне представленных изменений выраженного альвеолярного выпота установлено не было (рис. 2).

Выводы

Т.о., заражение сирийских хомячков вирусом SARS-CoV-2 приводит к статистически значимым изменениям массы тела, а также выраженным гистопатологическим изменениям в легких. При этом максималь-

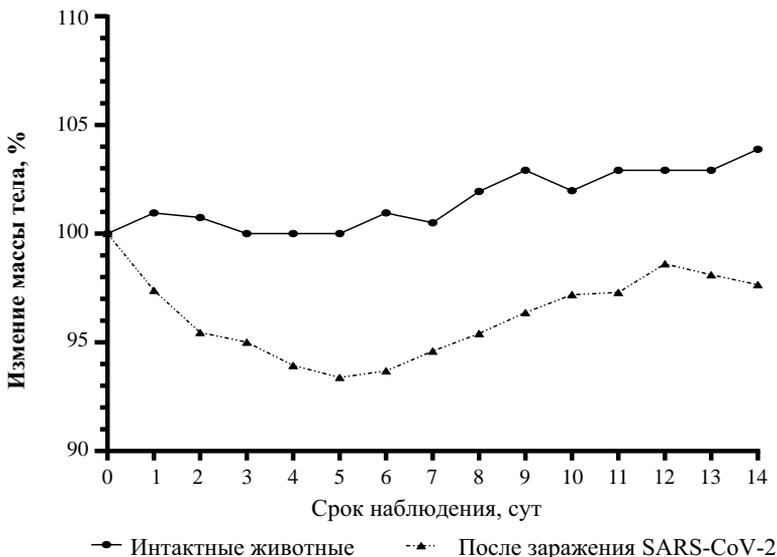


Рис. 1. Динамика массы тела (в процентах от фоновых значений) у золотистых сирийских хомячков после заражения вирусом SARS-CoV-2 в дозе 4×10^4 ТЦИД₅₀ Ме [Q1; Q3]. С первых суток наблюдения различия показателей зараженных животных с группой виварного контроля статистически значимы при $p < 0,05$ (критерий Манна — Уитни).

Fig. 1. Dynamics of body weight (as a percentage of the baseline values) in golden Syrian hamsters after infection with the SARS-CoV-2 virus at a dose of 4×10^4 TCID₅₀ Me [Q1; Q3]. From the first day of observation, the differences in the parameters of infected animals with the vivar control group are statistically significant at $p < 0,05$ (Mann — Whitney test). The x-axis is the observation period in days, the y-axis is the change in body weight in percent.

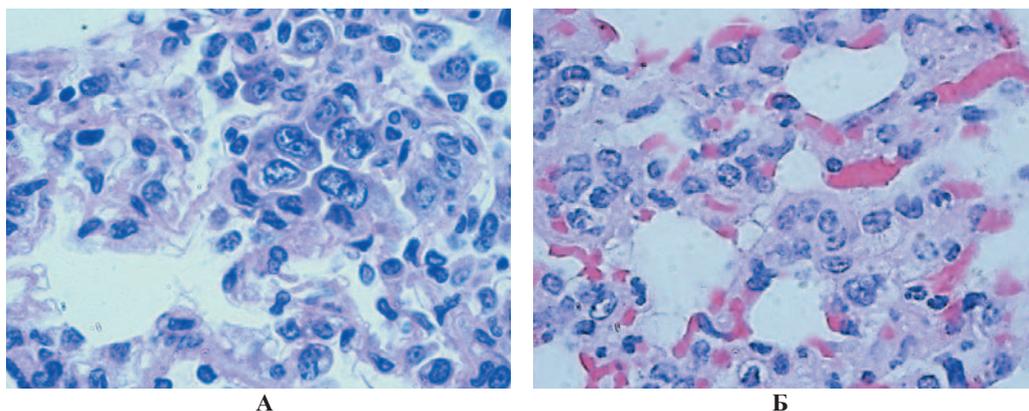


Рис. 2. Гистопатологические изменения в лёгких сирийских хомячков на 7-е сут после заражения SARS-CoV-2 в дозе 4×10^4 ТЦИД₅₀. Окраска парафиновых срезов гематоксилином и эозином. А — появление эпителиоидных клеток и активация фагоцитов в межальвеолярных перегородках лёгких, об. $\times 100$; Б — застой крови и тромбоз микрососудов паренхимы лёгких, об. $\times 40$.

Fig. 2. Histopathological changes in the lungs of Syrian hamsters on day 7th after infection with SARS-CoV-2 at a dose of 4×10^4 TCID₅₀. Staining of paraffin sections with hematoxylin and eosin. A — the appearance of epithelioid cells and the activation of phagocytes in the interalveolar septa of the lungs, vol. $\times 100$; B — stagnation of blood and thrombosis of microvessels of the lung parenchyma, vol. $\times 40$.

ную выраженность патологический процесс приобретает на 7-е сут после заражения, что позволяет считать манифестацию данного периода наиболее объективным показателем при оценке эффективности фармакологических средств.

Учитывая ограниченные возможности функциональных исследований при ра-

боте в условиях зоны противоэпидемиологического режима, анализ представленных в рамках работы параметров может служить оптимальным инструментом для скрининга разрабатываемых лекарственных препаратов неспецифической и специфической терапии новой коронавирусной инфекции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Imai M. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *PNAS*. 2020;117(28):16587–16595.
2. Tostanoski L.H. Ad26 vaccine protects against SARS-CoV-2 severe clinical disease in hamsters. *Nat. Med.* 2020. DOI 10/1038/s41591-020-1070-6.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Чепур Сергей Викторович, д.м.н., ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Минобороны России

Мясников Вадим Александрович, к.м.н., ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Минобороны России

Sergey V. Chepur, Dr. Sci. (Med.), State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of Russia

Vadim A. Myasnikov, Cand. Sci. (Med.), State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of Russia

Тюнин Михаил Александрович, к.м.н., ФГБУ
«Государственный научно-исследовательский
испытательный институт военной медицины»
Минобороны России

Ильинский Никита Сергеевич, ФГБУ
«Государственный научно-исследовательский
испытательный институт военной медицины»
Минобороны России

Никишин Александр Сергеевич*, ФГБУ
«Государственный научно-исследовательский
испытательный институт военной медицины»
Минобороны России
e-mail: gniiivm_7@mil.ru

Исаева Анастасия Александровна, ФГБУ
«Государственный научно-исследовательский
испытательный институт военной медицины»
Минобороны России

Шевченко Валентин Алексеевич, ФГБУ
«Государственный научно-исследовательский
испытательный институт военной медицины»
Минобороны России

Mikhail A. Tyunin, Cand. Sci. (Med.), State
Scientific Research Testing Institute of Military
Medicine of the Ministry of Defense of Russia

Nikita S. Ilinskiy, State Scientific Research Testing
Institute of Military Medicine of the Ministry of
Defense of Russia

Alexandr S. Nikishin*, State scientific-research
test Institute of military medicine of Defense
Ministry of the Russian Federation
e-mail: gniiivm_7@mil.ru

Anastasiya A. Isaeva, State Scientific Research
Testing Institute of Military Medicine of the
Ministry of Defense of Russia

Valentin A. Shevchenko, State Scientific Research
Testing Institute of Military Medicine of the
Ministry of Defense of Russia

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-95-99>



ВЛИЯНИЕ 4,4'-(ПРОПАНДИАМИДО)ДИБЕНЗОАТА НАТРИЯ НА ПРОЯВЛЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА

М.А. Белых

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

Проведена оценка влияния производного пропандиовой кислоты — 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоата натрия (малобена) — при 24-недельном моделировании стеатогепатита на физиологические и гистологические характеристики у мышей линии C57BL/6. Выявлено, что соединение обладает гепатопротекторными и регенераторными свойствами и может быть перспективно для дальнейшего изучения в качестве антистеатозного средства.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, стеатогепатит, малобен

Конфликт интересов: автор заявил об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности: Выражаем глубокую благодарность руководителю отдела тканевых и патоморфологических методов исследования ФГБУ НИИДИ ФМБА России д.м.н. Кареву В.Е. за помощь в проведении исследования.

Для цитирования: Белых М.А. Влияние 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоата натрия на проявления экспериментального неалкогольного стеатогепатита. *Биомедицина*. 2021;17(3):95–99. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-95-99>

Поступила 01.05.2021

Принята после доработки 07.06.2021

Опубликована 10.09.2021

IMPACT OF 4,4'-(PROPANEDIAMIDE)DIBENZOATE SODIUM ON MANIFESTATIONS OF EXPERIMENTAL NON-ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS

Maria A. Belykh

Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia
197376, Russian Federation, Saint Petersburg, Professora Popova Str., 14, lit. A

The impact of a propanedioic acid derivative, 4,4'-(propanediamide)dibenzoate sodium (maloben), on the physiological and histological characteristics of mice line C57BL/6 was studied under 24-week modeled steatohepatitis. It was found that the compound in question exhibits hepatoprotective and regenerative properties, thus being promising for further study as an anti-steatosis agent.

Keywords: non-alcoholic fatty liver disease, steatohepatitis, maloben

Conflict of interests: the author declares no conflicts of interest.

Acknowledgements: the author expresses gratitude to the Head of the Department of Tissue and Pathomorphological Research Methods FSBI SRICI of FMBA of Russia Dr. Sci. (Med.) Karev V.E. for his assistance in investigation.

For citation: Belykh M.A. Impact of 4,4'-(propanediamide)Dibenzoate Sodium on Manifestations of Experimental Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Journal biomed.* 2021;17(3):95–99. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-95-99>

Submitted 01.05.2021

Revised 07.06.2021

Published 10.09.2021

Введение

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) является наиболее часто встречающимся заболеванием гепато-билиарной системы, достигая 24% в популяции [7]. Существует выраженная необходимость проведения фармакотерапии, направленной на уменьшение проявлений стеатоза печени и стеатогепатита с целью предупреждения фиброза органа. Недостаточная эффективность гепатотропных препаратов при НАЖБП диктует высокую потребность в изыскании новых эффективных лекарственных средств, которые позволили бы расширить арсенал препаратов с данным видом терапевтического действия [4, 6]. Одним из перспективных фармакологических агентов может считаться 4,4'-(пропандиамидо)добензоат натрия (малобен), синтезированный в ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, для которого ранее была показана способность уменьшать апоптоз гепатоцитов при экспериментальной НАЖБП [1].

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 90-а лабораторных мышках-самцах линии C57BL/6 массой 22–30 г, разделенных на три равные группы по 30 особей. Мыши интактной группы содержались на обычном пищевом рационе. Животные контрольной и опытной групп имели в свободном доступе комбинированный корм, состоящий из 63% стандартного корма, 19% топленого свиного жира, 10% сахарозы и 8% изолированного соевого белка [8]. На фоне такой диеты опытная группа получала ежедневно малобен (10 мг/кг), а контроль-

ная и интактная — эквивалентное количество физ. р-ра.

Ежемесячно мышам измеряли длину тела, окружность грудной клетки (ОГ), окружность живота (ОЖ) [5], рассчитывали соотношение ОЖ/ОГ, индекс массы тела согласно формуле: $ИМТ = \frac{\text{масса (г)}}{\text{длина тела (см)}^2}$. По окончании эксперимента осуществлялось суммарное взвешивание всех жировых депо и определение соотношения массы жира к массе тела мыши. Животных наркотизировали хлоралгидратом (350 мг/кг, «Merck KGaA», Германия) и забирали ткань печени для гистологического исследования. Образцы фиксировали 10% нормальным (рН=7,4) р-ром формальдегида в течение 24-х ч. Фиксированные образцы ткани подвергали гистологической обработке посредством последовательной инкубации образцов в изопропанол и последующей имбибиции парафином по общепринятой методике. Из приготовленных парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 4 мкм с использованием полуавтоматического ротационного микротомы HM340E («Thermo», Германия) и окрашивали их гематоксилином и эозином. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программ Microsoft Excel 2013 и Statistica 10.0.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что малобен практически не оказывал значимого влияния на зоометрические показатели животных. Однако отношение массы жира к массе тела, свидетельствующее о накоплении висцерального жира, продемонстрировало статистически значимое ($p < 0,05$) снижение в 1,26 раза

в группе мышей, получавших малобен, по сравнению с контрольными животными. Важно отметить, что именно с увеличением висцерального жира в организме ассоциировано развитие метаболического синдрома и стеатоза печени [2].

Гистологическое исследование печени является «золотым стандартом» диагностики стеатоза, воспаления и оценки стадии фиброза при НАЖБП [3]. У животных интактной группы показано сохранение структуры печеночной ткани (рис. 1). У животных контрольной группы в отдельных портальных трактах выявлена разной степени выраженности лимфоцитарная или лимфомакрофагальная инфильтрация стромы. В перипортальных отделах печеночных долек обнаруживалась преимущественно мелкоочаговая лимфо-гистиоцитарная инфильтрация, расположенная среди групп гепатоцитов с некробиотическими изменениями. В некоторых образцах имелись крупные очаги некроза, обильно инфильтрированные лимфоцитами, нейтрофи-

лами и эозинофильными гранулоцитами, расположенными в паренхиме печени, преимущественно в непосредственной близости от стенок центральных (печеночных) вен (рис. 2). Помимо некротически-воспалительных изменений, в цитоплазме гепатоцитов определялись множественные мелкие капли жира.

В группе животных, получавших на фоне высококалорийного корма малобен, преобладали проявления текущей организации (с макрофагальной продуктивной реакцией), а также регенераторные изменения гепатоцитов при явно менее выраженных явлениях повреждения паренхимы печени (рис. 3, 4). Кроме того, следует отметить уменьшение жировой инфильтрации гепатоцитов при использовании фармакологического агента. По всей видимости, малобен обладает протективными и регенераторными свойствами, обуславливающими существенно более выраженное и раннее репаративное и регенераторное воздействие на печень.

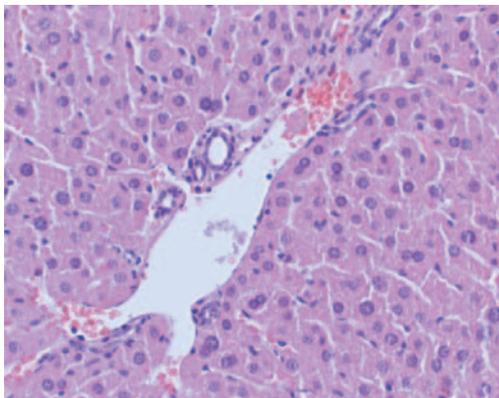


Рис. 1. Отсутствие фиброза и патологической клеточной инфильтрации стромы портального тракта в группе интактных животных. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$.

Fig. 1. Absence of fibrosis and pathological cellular infiltration of the portal tract stroma in the group of intact animals. Hematoxylin and eosin staining, $\times 400$.

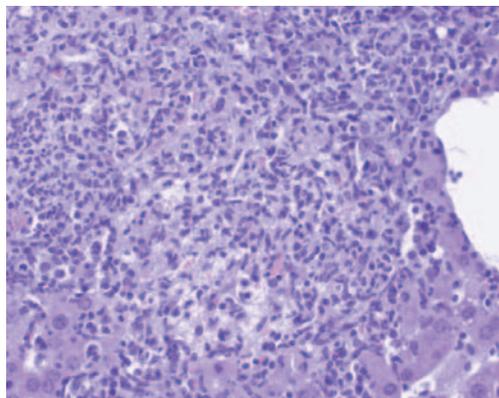


Рис. 2. Крупный очаг некроза с обильной полиморфноклеточной инфильтрацией в центролобулярном отделе печеночной дольки в группе животных с экспериментальным стеатогепатитом. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$.

Fig. 2. A large focus of necrosis with abundant polymorphic cell infiltration in the centrilobular section of the hepatic lobule in the group of animals with experimental steatohepatitis. Hematoxylin and eosin staining, $\times 400$.

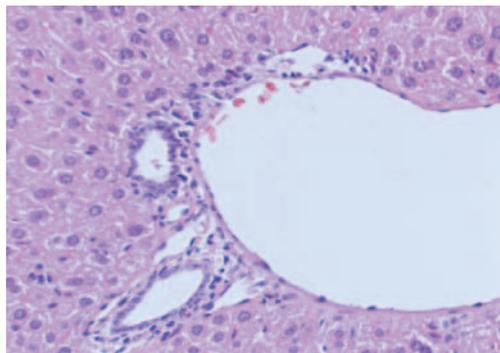


Рис. 3. Сохраненная структура печеночной ткани, отсутствие фиброза портальных трактов, неравномерная скудная лимфо-макрофагальная инфильтрация стромы в группе животных опытной группы. Окраска гематоксилином и эозином, ув. x400.

Fig. 3. The preserved structure of the hepatic tissue, the absence of fibrosis of the portal tracts, uneven scanty lymph-macrophage infiltration of the stroma in the group of experimental animals. Hematoxylin and eosin staining, x400.

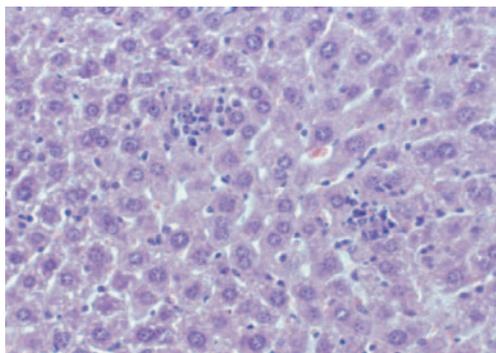


Рис. 4. Мелкие фокусы пролиферации гепатоцитов в зонах повреждения паренхимы в группе животных опытной группы. Окраска гематоксилином и эозином, ув. x400.

Fig. 4. Small foci of hepatocyte proliferation in the zones of parenchymal injuries in the group of experimental animals. Hematoxylin and eosin staining, x400.

Выводы

1. 4,4'-(пропандиамидо)-добензоат натрия (малобен) позволяет снижать выраженность висцерального ожирения у экспериментальных животных на фоне гиперкалорийной диеты.

2. Выявлено преобладание альтернативно-экссудативных изменений (отражающих повреждение) в группе с экспериментальным стеатогепатитом и продуктивных и пролиферативных (отражающих процессы репарации и регенерации) в группе, получавшей на фоне гиперкалорийной диеты малобен.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Бажанова Е.Д., Оковитый С.В., Бельх М.А. Влияние 4,4'-(пропандиамидо)добензоата натрия и метформина на динамику апоптоза и пролиферации гепатоцитов у мышей с сахарным диабетом и ожирением. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2018;81(5):17–20. [Bazhanova E.D., Okovityi S.V., Belykh M.A. Vliyaniye 4,4'-(propan-diamido)dibenzonata natriya I metformina na dinamiku apoptoza i proliferacii gepatocitov u myshei s saharnym diabetom I ojireniem [Effect of sodium 4,4'-(propanediamide)dibenzooate and metformin on the dynamics of apoptosis and proliferation of hepatocytes in mice with diabetes and obesity. *Exp. and Clin. Pharm.* 2018;81(5):17–20. (In Russian)].
2. Драпкина О.М., Корнеева О.Н. Континуум неалкогольной жировой болезни печени: от стеатоза печени до сердечно-сосудистого риска. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2016;12(4):424–429. [Drapkina O.M., Korneeva O.N. Kontinuum nealkogol'noy jirovoy bolezni pecheni: ot steatoza pecheni do serdечно-sosudistogo riska [Continuum of non-alcoholic fatty liver disease from hepatic steatosis to cardiovascular risk. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2016;12(4):424–429. (In Russian)].
3. Лазебник Л.Б., Голованова Е.В., Туркина С.В. и др. Неалкогольная жировая болезнь печени у взрослых: клиника, диагностика, лечение. Рекоменд. для терапевтов, третья версия. *Эксперим. и клин. гастроэнтерол.* 2021;185(1):4–52. [Labeznik L.B. Golovanova E.V., Turkina S.V., et al. Nealkogol'nyy jirovyya bolezny' pecheni u vzroslykh: klinika, diagnostika, lechenie. Rekom. dlya terapevtov, tret'ya versiya [Non-alcoholic fatty liver disease in adults: clinic, diagnostic, treatment. Guidelines for therapists, third version. *Clinical and Experimental Gastroenterology*. 2021;185(1):4–52. (In Russian)].
4. Оковитый С.В. Комбинированное применение гепатопротекторов. *Лечащий врач*. 2020;8:38–43. [Okovityi S.V. Kombinirovannoe primeneniye gepatoprotektorov [Combined use of hepatoprotective

- agents. *Lechashchiy vrach [Therapist]*. 2020;(8):38–43. (In Russian)].
5. Тиньков А.А., Попова Е.В., Никоноров А.А. Влияние сульфата железа на эндокринную дисфункцию жировой ткани крыс линии Wistar. *Казанский мед. журн.* 2013;5:760–763. [Tin'kov A.A., Popova E.V., Nikonov A.A. Vliyanie sul'fata jeleza na endokrinnuyu disfunkciyu jirovoi tkani krys linii Wistar [Influence of iron sulfate on adipose tissue endocrine dysfunction of Wistar rats. *Kazan Medical Journal*. 2013;5:760–763. (In Russian)].
 6. Dufour J.F., Caussy C., Loomba R. Combination therapy for non-alcoholic steatohepatitis: rationale, opportunities and challenges. *Gut*. 2020;69(10):1877–1884.
 7. Moon A.M., Singal A.G., Tapper E.B. Contemporary Epidemiology of Chronic Liver Disease and Cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020;18(12):2650–2666.
 8. Xu B.L., Wang R., Ma L.N., Dong W., Zhao Z.W., Zhang J.S., Wang Y.L., Zhang X. Effects of caloric intake on learning and memory function in juvenile C57BL/6J mice *BioMed research international*. 2015.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ | INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Бельх Мария Александровна, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: belych.mariya@pharminnotech.com

Maria A. Belykh, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: belych.mariya@pharminnotech.com

ИЗУЧЕНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ФУМАРОВОЙ КИСЛОТЫ

В.Ц. Болотова*, И.А. Титович, Е.Б. Шустов

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
Минздрава России

197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А

В тесте «Сужающаяся дорожка» на 21-е сут после окклюзии средней мозговой артерии установлено, что янтарная соль фумарового эфира диэтилэтанолamina (ФДЭС) в дозах 10 и 75 мг/кг оказывала статистически значимое снижение степени выраженности сенсомоторного дефицита передней и задней контралатеральных конечностей белых крыс-самцов в условиях церебральной ишемии. Исследуемое вещество (доза 10 мг/кг) способствовало снижению объема ишемического повреждения коры головного мозга крыс в 1,5 раза. По нейропротективной активности янтарная соль фумарового эфира диэтилэтанолamina 10 мг/кг сопоставима с действием препарата цитиколина 500 мг/кг.

Ключевые слова: острое нарушение мозгового кровообращения, сенсомоторный дефицит, нейропротекторное средство, диэтилэтанолamina производное

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Болотова В.Ц., Титович И.А., Шустов Е.Б. Изучение нейропротекторной активности нового производного фумаровой кислоты. *Биомедицина*. 2021;17(3):100–104. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-100-104>

Поступила 10.05.2021

Принята после доработки 25.05.2021

Опубликована 10.09.2021

STUDY OF THE NEUROPROTECTIVE ACTIVITY OF A NEW FUMARIC ACID DERIVATIVE

Vera Ts. Bolotova*, Irina A. Titovich, Evgeniy B. Shustov

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Professora Popova Str., 14, lit. A

In a narrowing beam-walking test, on the 21st day after the occlusion of the middle cerebral artery, it was found that the succinic salt of diethylaminoethanol fumaric ester (PDES), at doses of 10 and 75 mg/kg, led to a statistically significant decrease in the severity of sensorimotor deficit of the anterior and posterior contralateral limbs of male rats under the conditions of cerebral ischemia. The test substance at a dose of 10 mg/kg reduced the volume of ischemic damage to the cerebral cortex of rats by 1.5 times. In terms of neuroprotective activity, the effect of the succinic salt of diethylaminoethanol fumaric ester at a dose of 10 mg/kg is comparable to that of Citicoline at a dose of 500 mg/kg.

Keywords: acute cerebral circulatory disorders, sensory and motor deficiency, neuroprotective agent, diethylethanolamine derivative

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

For citation: Bolotova V.Ts., Titovich I.A., Shustov E.B. Study of the Neuroprotective Activity of a New Fumaric Acid Derivative. *Journal Biomed.* 2021;17(3):100–104. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-100-104>

Submitted 10.05.2021

Revised 25.05.2021

Published 10.09.2021

Введение

Острые ишемические нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) относятся к числу наиболее распространенных форм патологии, играющих ведущую роль в инвалидизации и смертности населения. В комплексном лечении цереброваскулярных заболеваний применяется нейропротекторная терапия, которая обеспечивает увеличение периода выживания нейронов в условиях повреждающего действия каскада нейробиохимических реакций как при острых, так и при хронических патологических процессах в нервной системе. В СПХФУ была синтезирована новая молекула — янтарная соль фумарового эфира диэтилэтаноламина (ФДЭС), обладающее нейротропной и антигипоксической активностью [2, 3].

Цель исследования — изучение влияния ФДЭС на неврологический дефицит после окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА) у белых крыс-самцов в тесте «Сужающаяся дорожка».

Материалы и методы

Исследования выполнены на 50-ти белых беспородных крысах-самцах массой 220–240 г. Животные были рандомизированы на 4-е группы (n=10): группы 1 и 2 получали ФДЭС в дозах 10 и 75 мг/кг соответственно, группа 3 получала референсный препарат цитиколин в дозе 500 мг/кг, контрольной группе вводили изотонический р-р натрия хлорида в эквивалентных количествах. Исследуемое вещество и препарат сравнения вводили ежедневно внутривенно в течение 21-го дня.

Церебральную ишемию моделировали с помощью ОСМА по методике Longa [5]. По окончании эксперимента оценивали нарушение координации движений в тесте «Сужающаяся дорожка» [6] и объем поврежденного мозга [4].

Для определения объема очага поражения ткань головного мозга окрашивали в 2% р-ре 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ) в фосфатном буфере ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$, pH=7,4) при комнатной температуре в течение 20–30-ти мин. Далее готовили срезы головного мозга, фотографировали цветной видеокамерой CCD IRIS (модель DXC-107AP, SONY Corp.), соединенной с микроскопом (Olympus SZ-CTV) и сканировали их. Планиметрическую обработку фотографий проводили с помощью программы ImageJ. Рассчитывали (в мм^3) объем контролатерального полушария, ипсилатерального полушария и объем поражения головного мозга.

Статистическая обработка результатов осуществлялась методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Числовые данные, приводимые в таблицах, представлены в виде: среднее арифметическое (M) ± стандартная ошибка среднего (m).

Результаты

На фоне фокальной ишемии тест «Сужающаяся дорожка» выявил выраженный сенсомоторный и моторно-координационный дефицит и снижение неврологического дефицита при введении исследуемого соединения (табл. 1). На 21-е сут после ОСМА для задней конечности процент соскальзывания уменьшался в среднем на 27% для обеих доз препарата

($p=1 \times 10^{-6}$, $D=0,639$) по сравнению с группой контроля. Статистически значимых различий между дозами ФДЭС выявлено не было. Для передней конечности было отмечено статистически значимое снижение данного показателя на 29% ($p=2 \times 10^{-6}$, $D=0,624$) и 41% ($p=9 \times 10^{-11}$, $D=0,832$) у животных, леченых ФДЭС, в дозе 10 и 75 мг/кг, соответственно. Различие по влиянию на переднюю конечность крысы между дозами ФДЭС статистически достоверно, улучшение состояния двигательной функции конечностей в тесте «Сужающаяся дорожка» на меньшей дозе проявлялось в большей степени. Цитиколин достоверно улучшал моторику передней конралатеральной конечности по сравнению с контролем, однако не превосходил изучаемое вещество.

Результаты исследований объема очага поражения головного мозга, вызванного ОСМА, представлены в табл. 2. У крыс, которым вводили ФДЭС в дозе 10 и 75 мг/кг,

после ОСМА наблюдали статистически значимое уменьшение очага поражения головного мозга в 1,5 раза ($p=2 \times 10^{-8}$) и 1,4 раза ($p=9 \times 10^{-6}$) соответственно, по сравнению с животными контрольной группы. Цитиколин статистически значимо уменьшал зону некроза в 1,7 раза ($p=3 \times 10^{-9}$) по сравнению с группой контрольных крыс (табл. 2).

Обсуждение результатов

Поскольку изучаемое вещество оказывало нейрореабилитационное действие в несубстратных дозах, можно предположить, что положительный эффект данного средства связан не только с возможным накоплением ацетилхолина, но и с имеющимися в строении молекулы остатками fumarата и succinata. Вероятно, образующийся в процессе метаболизма молекулы ФДЭС succинат может взаимодействовать с succинатными рецепторами (SUCNR 1),

Таблица 1. Влияние ФДЭС и цитиколина на степень выраженности сенсомоторного дефицита передней и задней конралатеральных конечностей животных в тесте «Сужающаяся дорожка» на 21-е сут после ОСМА
Table 1. Impact of PDES and Citicolin on the severity of sensorimotor deficit of the anterior and posterior contralateral limbs of animals in a narrowing beam-walking test on the 21st day

Группа	Показатель теста «Сужающаяся дорожка» на 21-е сут после ОСМА	
	Задняя лапа	Передняя лапа
Ложнооперированная	96,80±2,15	100,00±0,00
ОСМА (контроль)	54,43±2,89 ¹	45,51±3,18 ¹
ОСМА+ФДЭС, 10 мг/кг	81,90±2,62 ²	74,91±2,91 ^{1,2}
ОСМА+ФДЭС, 75 мг/кг	81,41±2,89 ^{1,2}	86,79±1,77 ^{1,2}
ОСМА+Цитиколин	77,65±2,38 ^{1,2}	80,46±2,22 ^{1,2}

Примечание: ¹ — статистически значимое отличие от ложнооперированной группы ($p < 0,005$); ² — статистически значимое отличие от контрольной группы ($p < 0,005$), значения показателя до операции — 100 для всех групп.

Note: ¹ — statistically significant difference from the sham-operated group ($p < 0.005$); ² — statistically significant difference from the control group ($p < 0.005$), the value of the indicator before surgery — 100 for all the groups.

Таблица 2. Влияние ФДЭС на развитие ишемического очага поражения головного мозга крыс
Table 2. Impact of PDES on the development of an ischemic focus of brain lesions in rats

Группа	Размер поражения мозга в мм ³	P	D
Контрольная	310,27±8,06		
ФДЭС, 10 мг/кг	201,46±9,54	$1,71 \times 10^{-8}$	0,741
ФДЭС, 75 мг/кг	225,86±11,34	$8,47 \times 10^{-6}$	0,569
Цитиколин	182,85±10,05	$2,70 \times 10^{-9}$	0,777

Примечание: p — статистически значимое отличие от группы контроля; D — коэффициент детерминации.
Note: p — statistically significant difference from the control group; D — the coefficient of determination.

расположенными в нейронах коры головного мозга. Как было показано, SUCNR 1 рецепторы участвуют в экспрессии основных проангиогенных факторов и регуляции активности NMDA рецепторов [1], что также может вносить вклад в нейропротекторное действие изучаемого вещества.

Также не исключено, что ФДЭС является эффективным носителем холиноподобных соединений через гематоэнцефалический барьер, т.к. сопоставимые с цитиколином нейротропные эффекты отмечаются в существенно более низкой дозе (10 мг/кг для ФДЭС против 500 мг/кг для цитиколина).

Таким образом, применение ФДЭС в дозе 10 мг/кг у животных после ОСМА позволило достичь улучшения состояния моторной функции передней и задней конечностей, расположенных контралатерально к месту повреждения.

Полученные результаты исследований являются экспериментальным обоснованием целесообразности дальнейшего углубленного изучения производного фумаровой кислоты под лабораторным шифром ФДЭС в дозе 10 мг/кг в качестве потенциального нейропротектора в условиях ишемии головного мозга.

Выводы

1. Наиболее выраженный нейропротекторный эффект янтарной соли фумарового эфира диэтилэтанолamina был выявлен в дозе 10 мг/кг, который проявлялся в снижении объема ишемического повреждения коры.

2. По нейропротективной активности янтарная соль фумарового эфира диэтилэтанолamina в дозе 10 мг/кг сопоставима с действием препарата сравнения цитиколином в дозе 500 мг/кг.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Оковитый С.В., Радько С.В., Шустов Е.Б. Сукцинатные рецепторы (SUCNR1) как перспективная мишень фармакотерапии. *Химико-фармацевтический журнал*. 2015;49(9):1–7. [Okovitiy S.V., Rad'ko S.V., Shustov E.B. Sukcinatnye receptory (SUCNR1) kak perspektivnaya mishen' farmakoterapii [Succinate receptors (SUCNR1) as a promising target for pharmacotherapy]. *Chemical and Pharmaceutical J.* 2015;49(9):1–7. (In Russian)].
2. Титович И.А., Сысоев Ю.И., Болотова В.Ц., Оковитый С.В. Нейротропная активность нового производного аминокетанола в условиях экспериментальной ишемии головного мозга. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2017;80(5):3–6. [Titovich I.A., Sysoev Ju.I., Bolotova V.Ts., Okovitiy S.V. Nejtropnaja aktivnost' novogo proizvodnogo aminoketanol v uslovijah jeksperimental'noj ishemii golovnogo mozga [Neurotropic activity of a new aminoethanol derivative under conditions of experimental cerebral ischemia]. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2017;80(5):3–6. (In Russian)].
3. Титович И.А., Болотова В.Ц. Экспериментальное изучение антигипоксической активности нового производного аминокетанола. *Биомедицина*. 2016;1:77–83. [Titovich I.A., Bolotova V.Ts. Jeksperimental'noe izuchenie antigipoksicheskoj aktivnosti novogo proizvodnogo aminoketanol [Experimental study of the antihypoxic activity of a new aminoethanol derivative]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2016;1:77–83. (In Russian)].
4. Broeke J., Mateos Perez J.M., Pascau J. *Image Processing with Image J. 2nd Ed.* Packt Publ., 2015:256.
5. Longa E.Z., Weinstein P.R., Carlson S., Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1989;20(1):84–91.
6. Schallert T., Woodlee M.T., Fleming S.M. Disentangling multiple types of recovery from brain injury. In: Krieglstein J., Klumpp S. *Pharmacology of Cerebral Ischemia* 2002. Stuttgart: Medpharm Scientific Publ., 2002:201–216.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Бологова Вера Цезаревна*, к.фарм.н., доц.,
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государ-
ственный химико-фармацевтический универси-
тет» Минздрава России;

e-mail: vera.bolotova@pharminnotech.com

Титович Ирина Александровна, к.б.н.,
доц., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный химико-фармацевтический
университет» Минздрава России;

e-mail irina.titovich@pharminnotech.com

Шустов Евгений Борисович, д.м.н.,
проф., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный химико-фармацевтический
университет» Минздрава России;

e-mail: shustov-msk@mail.ru

Vera Ts. Bolotova*, Cand. Sci. (Pharm.),
Assoc. Prof., St. Petersburg State Chemical and
Pharmaceutical University of the Ministry of Health
Care of Russia;

e-mail: vera.bolotova@pharminnotech.com

Irina A. Titovich, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof.,
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical
University of the Ministry of Health Care of Russia;

e-mail irina.titovich@pharminnotech.com

Evgeniy B. Shustov, Dr. Sci. (Med.), Prof., St.
Petersburg State Chemical and Pharmaceutical
University of the Ministry of Health Care of Russia;

e-mail: shustov-msk@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-105-110>



КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ НОВОГО ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ГРУППЫ ДИАРИЛХИНОЛИНОВ

А.Ю. Савченко^{1*}, Г.В. Раменская², В.Г. Кукес¹, М.С. Буренков³, Б.В. Шилов⁴

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

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)
119991, Российская Федерация, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

³ АО «Фарм-Синтез»
111024, Российская Федерация, Москва, 2-я Кабельная ул., 2, стр. 46

⁴ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова» Минздрава России
117997, Российская Федерация, Москва, ул. Островитянова, 1

Исследовали безопасность нового противотуберкулезного препарата Тиозонид с применением методов биоинформатики, доклинических методик с использованием лабораторных животных и при участии здоровых добровольцев. Предсказанное отсутствие токсических эффектов на основные системы жизнеобеспечения млекопитающих с применением QSAR-моделей подтвердили результаты испытаний острой, субхронической и хронической токсичности на различных лабораторных животных. Мониторинг жизненно важных показателей добровольцев и сравнительный анализ обобщенных результатов этих показателей до (скрининг), на протяжении и по окончании исследования показали отсутствие достоверных и клинически значимых изменений, угрожающих жизни и здоровью людей.

Ключевые слова: тиозонид, безопасность, комплексный подход

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Савченко А.Ю., Раменская Г.В., Кукес В.Г., Буренков М.С., Шилов Б.В. Комплексная оценка безопасности нового противотуберкулезного препарата из группы диарилхинолинов. *Биомедицина*. 2021;17(3):105–110. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-105-110>

Поступила 29.04.2021

Принята после доработки 24.05.2021

Опубликована 10.09.2021

COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF THE SAFETY OF A NEW ANTITUBERCULOSIS DRUG FROM THE DIARYLQUINOLINES GROUP

Alla Yu. Savchenko^{1*}, Galina V. Ramenskaya², Vladimir G. Kukes¹,
Mikhail S. Burenkov³, Boris V. Shilov⁴

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

² I.M. Sechenov Moscow State Medical University (Sechenov University)
119991, Russian Federation, Moscow, Trubetskaya Str., 8, building 2

³ Pharm-Sintez
111024, Russian Federation, Moscow, 2nd Kabelnaya Str., 2, building 46

⁴ Russian National Research Medical University Named after N.I. Pirogov
of the Ministry of Health Care of Russia
117997, Russian Federation, Moscow, Ostrovityanova Str., 1

The safety of the new anti-tuberculosis drug Tiozonide was studied by bioinformatics and preclinical methods using laboratory animals and with the participation of healthy volunteers. The absence of toxic effects on the main life support systems of mammals predicted by QSAR models was confirmed by the results of acute, subchronic and chronic toxicity tests in various laboratory animals. Monitoring of the vital indicators of volunteers and a comparative analysis of the generalized results of these indicators before (screening), during and after the study showed the absence of reliable and clinically significant changes that threaten the life and health of people.

Keywords: thiozonide, safety, integrated approach

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

For citation: Savchenko A.Yu., Ramenskaya G.V., Kukes V.G., Burenkov M.S., Shilov B.V. Comprehensive Assessment of the Safety of a New Antituberculosis Drug from the Diarylquinolines Group. *Journal Biomed.* 2021;17(3):105–110. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-105-110>

Submitted 29.04.2021

Revised 24.05.2021

Published 10.09.2021

Введение

Лечение туберкулеза — длительный процесс, сопровождающийся кумуляцией побочных эффектов лекарственного вещества, которые формируют нежелательные побочные реакции со стороны важнейших систем жизнеобеспечения, часто ограничивая лечение заболевания [1, 2]. На фоне регистрации в РФ препаратов зарубежного производства интерес представляет новая отечественная разработка — препарат из группы диарилхинолинов с рабочим названием Тиозонид (ЗАО «Фарм-синтез»), по химической структуре

представляющий собой -{1R,2S+1S,2R}-1-(6-Бром-2-хлорхинолил-3-ил)-4-(диметиламино)-2-(нафталин-1-ил)-1-фенилбутан-2-ол (порошок белого или белого с желтоватым оттенком цвета, нерастворим в воде, нерастворим в изотоническом р-ре, 1 г/л растворим в метаноле, 10 г/л — в хлороформе (р-р облучают на ультразвуковой бане в течение 10-ти мин [3]). Учитывая, что противотуберкулезная активность Тиозонида сравнима с препаратом 2-го ряда — рифампицином [4], резонно предположить, что в перспективе он может применяться длительными курсами.

В этой связи **целью** настоящего исследования явилась оценка возможной токсичности тиозонида, сочетающая три ступени изучения: биоинформатический подход, доклиническую оценку острой и хронической токсичности, а также анализ результатов клинического исследования безопасности нового препарата.

Материалы и методы

Биоинформатическая оценка безопасности

Предсказание острой токсичности у крыс проводилось с использованием веб-сервиса «ACUTE RAT TOXICITY PREDICTION» [12]. В веб-сервисе предсказание значений LD_{50} для нелинейных крыс при использовании четырех различных методов введения препарата (*per os*, внутривенно, внутривентриально и подкожно) проводилось с применением QSAR-моделей, построенных с использованием программы GUSAR [5]. Обучающие выборки включали информацию о приблизительно 10 000 химических структурах и соответствующие данные об острой токсичности в экспериментах на крысах. Результаты о моделировании подкожного введения препарата оказались вне домена применимости модели и поэтому они не вошли в итоговую оценку. Модели QSAR для набора из 32-х моделей величин (IC_{50} , K_i , K_{act}) описывали взаимодействие 4000 химических соединений с 18-ю нежелательными белками-мишенями (13 рецепторов, 2 фермента и 3 переносчика) [6]. Сервис «CLC-Pred: *in silico* prediction of cytotoxicity for tumor and non-tumor cell lines» [13], предназначенный для предсказания острой цитотоксичности, является результатом обработки экспериментальных данных на обучающей выборке из 59 882 структур соединений, который отражает современные знания о цитотоксических веществах в отношении 943 раковых и нераковых линий клеток человека.

Этим сервисом воспользовались для оценки возможной цитотоксичности тиозонида [7, 8, 9].

Доклиническую оценку острой токсичности тиозонида и хроническую токсичность определяли согласно Руководству [10]. Оценка безопасности в отношении человека проведена в рамках исследования по протоколу «Открытое исследование I фазы по изучению фармакокинетики, безопасности и переносимости препарата Тиозонид, капсулы 100 мг (АО «Фарм-Синтез») при однократном приеме возрастающих доз различными группами здоровых добровольцев» (2013, Разрешение № 187 на проведение клинического исследования от 22 марта 2013 года, выданное Минздравом России).

Полученные данные подвергались статистической обработке согласно задаче исследования. В биоинформатической части использовались возможности соответствующих инструментов сервисов. В доклинической и клинической оценке безопасности — при помощи программы STATISTICA 6.0 for Windows с использованием критерия χ -квадрат. Если достигнутый уровень значимости различий не превышал 0,05, их считали достоверными [11].

Результаты и их обсуждение

Результаты прогноза токсичности препарата Тиозинд с указанием дозы вещества, прогнозирующей гибель 50% нелинейных крыс в эксперименте, отражены в диапазоне следующих доз LD_{50} (мг/кг): 456,700 (внутрибрюшинно), 43,290 (внутривенно) 485,600 (подкожно). Во всех случаях предсказана низкая токсичность (Class 4) по классификации токсичности химических соединений проекта OECD [14].

Предсказание нежелательных мишеней препарата Тиозонид, связанных с побочными эффектами, также проводилось с использованием веб-сервиса на основе

программы GUSAR [15]. Количественное измерение предсказанной активности позволило выделить потенциальные нежелательные мишени, величина предсказанного значения которых оказалась более 7-ми.

Сервис «CLC-Pred: *in silico* prediction of cytotoxicity for tumor and non-tumor cell lines» [13] не смог отнести Тиозонид с достаточной надежностью ни к одной из групп, вызывающих цитотоксический эффект. Следовательно, низка вероятность цитотоксического действия изучаемой молекулы. Аналогично сервис «ROSC-Pred: web-service for rodent organ-specific carcinogenicity prediction» [16], предназначенный для предсказания канцерогенности веществ, не дал значимых результатов, показав низкие значения вероятности отнесения молекулы тиозонида к группе канцерогенных соединений, протестированных на грызунах.

В ходе изучения острой токсичности субстанции Тиозонида на мышах линии Balb/c и нелинейных отклонений от норм в поведенческих реакциях и внешнем виде животных не выявлено. Препарат не вызывал гибели животных, симптомов острого отравления, изменений внутренних органов и не оказывал токсического действия. Однако у трёх животных в печени имелись дистрофические изменения гепатоцитов (вакуольная дистрофия) и усиленная реакция купферовских клеток. У одного из этих животных обнаружены немногочисленные очаги некроза гепатоцитов. У этих же животных в селезёнке имелась умеренная гиперплазия лимфоидных фолликулов и увеличение числа нейтрофилов в красной пульпе. Эти изменения можно расценивать как проявление слабого токсического воздействия указанной дозы субстанции препарата.

При воздействии Тиозонида в течение 6-ти мес. (исследование субхронической токсичности) не было отмечено значимых изменений массы, поведенческих реакций и показателей основных систем жизнеобес-

печения лабораторных животных. После 6-ти мес. внутрижелудочного введения нелинейным крысам субстанции Тиозонида макроскопически не обнаружено местное раздражающее действие на ЖКТ. Однако по результатам гистологических исследований установлено дозозависимое местное раздражающее действие вещества у самцов и самок, наиболее выраженное под влиянием субстанции в дозе 100 мг/кг.

При гистологическом исследовании нелинейных крыс, получавших Тиозонид в дозе 10 мг/кг, у отдельных животных отмечены признаки гиперсекреции слизи и очаговой десквамации эпителия слизистой оболочки ЖКТ, единично — некроз в тонкой кишке, у двух самок — изъязвления слизистой оболочки и небольшая макрофагальная реакция в лимфатических узлах. У животных, получавших субстанцию препарата Тиозонид в дозе 50 мг/кг, отмечены гиперсекреция слизи, очаговая десквамация эпителия, микроэрозии или язвенные дефекты слизистой оболочки. У крыс, получавших изучаемое вещество в дозе 100 мг/кг, отмечены признаки интоксикации в виде умеренного полнокровия внутренних органов, дистрофических изменений клеток печени, миокарда, половых желёз, чашечно-лоханочной системы почек. В ЖКТ у многих животных отмечены деструктивные изменения слизистой оболочки кишечника в виде эрозий, изъязвлений, некроза апикальных отделов ворсинок слизистой оболочки.

В ходе клинического исследования безопасности у пациентов, принимавших препарат, не было отмечено клинически значимых колебаний в состоянии кожных покровов, функционировании основных систем органов и показателей периферической крови, биохимических характеристик крови и мочи, а также основных жизненно важных параметров, таких как гемодинамические показатели, данные электрокардиографического обследования и температура тела.

В ходе проведенного клинического исследования препарат Тиозонид показал хорошую переносимость и безопасность, поскольку выявленные нежелательные явления не показали определенной или достоверной связи с исследуемым препаратом. Разрешение всех зарегистрированных нежелательных явлений было полным, а эскалация дозы не повлияла на количество, степень тяжести и связь с исследуемым препаратом. По результатам врачебных осмотров, проведенных в ходе исследования, а также сравнительного анализа обобщенных данных врачебного осмотра до (скрининг) и по окончании исследования не были выявлены какие-либо отклонения в состоянии здоровья у добровольцев, принимавших участие в исследовании. Мониторинг жизненно важных показателей, проведенных в процессе исследования, а также сравнительного анализа обобщенных результатов этих показателей

до (скрининг) и по окончании исследования показал, что достоверных изменений у добровольцев по жизненно важным показателям не было. Результаты мониторинга ЭКГ в ходе исследования, а также сравнительного анализа обобщенных результатов ЭКГ до (скрининг) и по окончании исследования не выявили клинически значимых изменений, угрожающих жизни и здоровью добровольцев.

Закключение

Проведенный комплексный анализ безопасности нового противотуберкулезного препарата из группы диарилхинолинов с рабочим названием Тиозонид убедительно продемонстрировал его безопасность и хорошую переносимость, предсказанную биоинформатически и подтвержденную как в эксперименте, так и здоровыми добровольцами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Бочарова И.В., Буренков М.С., Лепеха Л.Н., Смирнова Т.Г., Черноусова Л.Н., Демихова О.В. Доклинические исследования специфической активности нового противотуберкулезного препарата тиозонид. *Туберкулез и болезни легких*. 2014;6:46–50. [Bocharova I.V., Burenkov M.S., Lepetka L.N., Smirnova T.G., Chernousova L.N., Demihova O.V. Doklinicheskiye issledovaniya spetsificheskoy aktivnosti novogo protivotuberkuleznogo preparata tiozonid [Preclinical studies of the specific activity of the new anti-TB drug thiosonide]. *Tuberkulioz i bolezni legkih [Tuberculosis and lung disease]*. 2014;(6):46–50. (In Russian)]. DOI: 10.21292/2075-1230-2014-0-6-46-50.
2. Меньшикова Л.А. Фармакокинетическое исследование оригинального лекарственного средства тиозонида: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. М., 2016. [Men'shikova L.A. *Farmakokineticheskoye issledovaniye original'nogo lekarstvennogo sredstva tiozonida [Pharmacokinetic study of the original drug thiosonide]*: Autoref. of diss. ... cand. pharm. sci. Moscow, 2016. (In Russian)].
3. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая*. М.: Гриф и К, 2012:944. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. *Chast' pervaya [Guidelines for preclinical studies of drugs. Part one]*. Moscow: Grif i K Publ., 2012:944. (In Russian)].
4. Филинюк О.В., Фелькер И.Г., Янова Г.В., Буйнова Л.Н., Колоколова О.В. Факторы риска неэффективной химиотерапии больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью. *Туберкулез и болезни легких*. 2014;1:20–26. [Filinyuk O.V., Fel'ker I.G., Yanova G.V., Bujnova L.N., Kolokolova O.V. Faktory riska neeffektivnoy khimioterapii bol'nykh tuberkulezom s mnozhestvennoy lekarstvennoy ustoychivost'yu [Risk factors for ineffective chemotherapy for multidrug-resistant tuberculosis patients]. *Tuberkulioz i bolezni legkih [Tuberculosis and lung disease]*. 2014;1:20–26. (In Russian)].
5. Щегерцов Д.Ю., Филинюк О.В., Буйнова Л.Н., Земляная Н.А., Кабанец Н.Н., Аллилуев А.С. Нежелательные побочные реакции при лечении больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. *Туберкулез и болезни легких*. 2018;96(3):35–43. [Sheheger-tsov D.Yu., Filinyuk O.V., Bujnova L.N., Zemlyanaya N.A., Kabanec N.N., Alliluev A.S. Nezhelatel'nye pobochnye reaktcii pri lechenii bol'nykh tuberkulezom s mnozhestvennoy lekarstvennoy ustoychivost'yu vozбудitelya [Undesirable adverse reactions in the treatment of patients with multidrug-resistant tuberculosis of the pathogen]. *Tuberkulioz i bolezni legkih [Tuberculosis and lung disease]*. 2018;96(3):35–43. (In Russian)].

6. Harris M., Taylor G. *Medical statistics made easy*. London: Taylor and Francis, 2006.
7. Lagunin A., Rudik A., Filimonov D., Druzhilovskiy D., Poroikov V. *ROSC-Pred: web-service for rodent organ-specific carcinogenicity prediction*. 2017;34(4):710–712. DOI: 10.1093/bioinformatics/btx678.
8. Lagunin A., Zakharov A., Filimonov D., Poroikov V. QSAR modelling of rat acute toxicity on the basis of PASS prediction. *Mol. Informatics*. 2011;30(2–3):241–250.
9. Lagunin A.A., Dubovskaja V.I., Rudik A.V., Pogodin P.V., Druzhilovskiy D.S., Glorizova T.A., Filimonov D.A., Sastry G.N., Poroikov V.V. CLC-Pred: a freely available web-service for in silico prediction of human cell line cytotoxicity for drug-like compounds. *PLoS One*. 2018;13(1):e0191838. DOI: 10.1371/journal.pone.0191838.
10. Lagunin A.A., Dubovskaja V.I., Rudik A.V., Pogodin P.V., Druzhilovskiy D.S., Glorizova T.A., Filimonov D.A., Sastry G.N., Poroikov V.V. CLC-Pred: a freely available web-service for in silico prediction of human cell line cytotoxicity for drug-like compounds. *PLoS One*. 2018;13(1):e0191838. DOI: 10.1371/journal.pone.0191838.
11. Zakharov A.V., Lagunin A.A., Filimonov D.A., Poroikov V.V. Quantitative prediction of antitarget interaction profiles for chemical compounds. *Chemical Research in Toxicology*. 2012;25(11):2378–2385. DOI: 10.1021/tx300247r.
12. <http://www.way2drug.com/gusar/acutopredict.html>
13. <http://way2drug.com/Cell-line/index.php>
14. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/>
15. <http://www.way2drug.com/gusar/antitargets.html>
16. <http://www.way2drug.com/ROSC/>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Савченко Алла Юрьевна*, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

e-mail: alursav@mail.ru

Раменская Галина Владиславовна, д.фарм.н., проф., ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет);

e-mail: ramenskaia@mail.ru

Кукес Владимир Григорьевич, акад. РАН, д.м.н., проф., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

e-mail: Elmed@yandex.ru

Буренков Михаил Сергеевич, к.б.н., АО «Фарм-Синтез»;

e-mail: mburenkov@pharm-sintez.ru

Шилов Борис Владимирович, к.м.н., доц., ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России;

e-mail: borisshilov@gmail.com

Alla Yu. Savchenko*, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: alursav@mail.ru

Galina V. Ramenskaya, Dr. of Sci. (Pharm.), Prof., I.M. Sechenov Moscow State Medical University (Sechenov University);

e-mail: ramenskaia@mail.ru

Vladimir G. Kukes, Acad. of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: Elmed@yandex.ru

Mikhail S. Burenkov, Cand. Sci. (Biol.), Pharm-Sintez;

e-mail: mburenkov@pharm-sintez.ru

Boris V. Shilov, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov of the Ministry of Health Care of Russia;

e-mail: borisshilov@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



1,3-ДИЭТИЛБЕНЗИМИДАЗОЛИЯ ТРИЙОДИД В ФАРМАКОТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО КОМПЕНСИРОВАННОГО ТОНЗИЛЛОФАРИНГИТА

Е.К. Мелоян, А.В. Сафроненко, Е.В. Ганцгорн*, Л.Е. Хмара, А.О. Голубева, М.А. Джабр

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

В статье представлены результаты клинико-бактериологической оценки фармакологической эффективности 1,3-диэтилбензимидазолия трийодида при хроническом компенсированном тонзиллофарингите (ХКТФ). В результате 10-дневного курса лечения было достигнуто улучшение клинического статуса пациентов, а также значительное положительное влияние на состав микробиоценоза глотки. В частности, достоверно снижалось содержание золотистых стафилококков, β -гемолитических стрептококков, эшерихий, в то время как энтеробактерии, неферментирующие бактерии, стрептококки пневмонии из микробного очага исчезли полностью. Однако 10-дневное лечение не приводило к полному исчезновению из состава микробной популяции α -гемолитических и негемолитических стрептококков. Возможно, это связано со способностью Стелланина® оказывать репаративное действие на лимфоидные образования глотки, способствуя восстановлению колонизационной резистентности.

Ключевые слова: хронический компенсированный тонзиллофарингит, микробиоценоз глотки, 1,3-диэтилбензимидазолий трийодида

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Мелоян Е.К., Сафроненко А.В., Ганцгорн Е.В., Хмара Л.Е., Голубева А.О., Джабр М.А. 1,3-диэтилбензимидазолия трийодид в фармакотерапии хронического компенсированного тонзиллофарингита. *Биомедицина*. 2021;17(3):111–118. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-111-118>

Поступила 20.04.2021

Принята после доработки 03.06.2021

Опубликована 10.09.2021

1,3-DIETHYLBENZIMIDAZOLIUM TRIODIDE IN PHARMACOTHERAPY OF CHRONIC COMPENSATED TONSILLOPHARYNGITIS

Elena K. Meloyan, Andrey V. Safronenko, Elena V. Gantsgorn*, Lyubov E. Hmara,
Anna O. Golubeva, Mohamad A. Jabr

Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia
344022, Russian Federation Rostov-on-Don, Nakhichevanskiy Lane, 29

The article presents the results of a clinical and bacteriological assessment of the pharmacological efficacy of 1,3-diethylbenzimidazolium triiodide in chronic compensated tonsillopharyngitis. As a result of a 10-day course of treatment, an improvement in the clinical status of patients was achieved, as well as a significant positive effect on the composition of the pharyngeal microbiocenosis. In particular, the content of *Staphylococcus aureus*, β -hemolytic streptococci, *Escherichia* significantly decreased, and *Enterobacteria*, non-fermenting bacteria, and Streptococci pneumonia completely disappeared from the microbial focus.

However, the conducted 10-day treatment did not lead to the complete disappearance of α -hemolytic and non-hemolytic streptococci from the microbial population. This may be explained by the reparative effect of Stellanin® on the lymphoid formations of the pharynx, contributing to the restoration of colonization resistance.

Keywords: chronic compensated tonsillopharyngitis, pharyngeal microbiocenosis, 1,3-diethylbenzimidazolium triiodide

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

For citation: Meloyan E.K., Safronenko A.V., Gantsgorn E.V., Hmara L.E., Golubeva A.O., Jabr M.A. 1,3-Diethylbenzimidazolium Triiodide in Pharmacotherapy of Chronic Compensated Tonsillopharyngitis. *Journal Biomed.* 2021;17(3):111–118. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-111-118>

Submitted 20.04.2021

Revised 03.06.2021

Published 10.09.2021

Введение

Инфекционно-воспалительные заболевания верхних дыхательных путей прочно занимают одну из лидирующих позиций в общей врачебной практике. При этом в структуре общей заболеваемости и среди болезней ЛОР-органов до 3% и до 15%, соответственно, составляет удельный вес патологии гортани и глотки.

В медицинской литературе, в т.ч. зарубежной, в связи с трудностями в дифференциальной диагностике, фарингит и тонзиллит часто объединяют в одно заболевание — тонзиллофарингит. Действительно, ввиду тесного анатомического расположения и сходства гистологического строения воспаление небных миндалин и глотки в клинической ЛОР-практике редко обходятся друг без друга [1, 3]. С помощью корреляционного анализа доказана общность этиологии, патогенеза и клинических проявлений данных самостоятельных нозологий [9]. Результатом развития воспаления и как иммунологической, так и нервно-рефлекторной дисрегуляции становится дисбаланс биоценоза ротоглотки с последующим повреждением слизистой оболочки глотки и небных миндалин [5]. В свою очередь, хронический тонзиллофарингит (ХТФ) сопровождается стойким воспалением слизистой оболочки глоточного лимфатического кольца, общей ток-

сико-аллергической реакцией, рецидивами в форме ангин [7].

В качестве этиологических факторов ХТФ рассматривается стрептококковая инфекция — β -гемолитические стрептококки групп А, В, С, G, F, негруппируемые стрептококки, пневмококк, ассоциированные с золотистым стафилококком. Важным этиопатогенетическим фактором ХТФ является внутриклеточная персистенция β -гемолитического стрептококка, продуцирующего многочисленные инвазивные факторы. За счет стрептококков, находящихся внутри клеток, небные миндалины, в частности, являются резервуаром для рецидивирующих инфекционных процессов [8, 13]. При этом, в зависимости от стадии и выраженности воспалительного процесса, состав микрофлоры может заметно меняться. Так, в стадии ремиссии доля β -гемолитических стрептококков снижается, и начинают преобладать микоплазмы, энтеробактерии и стафилококки [10, 12, 14]. Однако, по современным данным, в этиологии ХТФ играют роль не только бактерии и их ассоциации, но и персистирующие вирусы. Среди них наиболее распространены цитомегаловирус, аденовирус, вирусы парагриппа, герпес-вирусы, вирус Эпштейна — Барр [1, 4].

Широкое распространение ХТФ и их высокая медико-социальная значимость опре-

деляют необходимость совершенствования методов их лечения. При этом крайне важно адекватное сопровождение пациентов с ХТФ не только в период обострений заболевания, но и непосредственно в течение стадии ремиссии. В данном аспекте представляется актуальным поиск и разработка безопасных и эффективных лекарственных средств в составе комплексной терапии для сокращения продолжительности заболевания, снижения риска развития осложнений, предотвращения рецидивов, улучшения качества жизни, а также решения проблем, ассоциированных с нерациональной антибактериальной терапией [2, 5, 8, 11].

Цель работы — клинико-бактериологическая оценка фармакологической эффективности 1,3-диэтилбензимидазолия трийодида при хроническом компенсированном тонзиллофарингите (ХКТФ).

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 75 больных с ХКТФ. Исследование было выполнено на базе лечебно-диагностического центра «Альянс 2000», оториноларингологического отделения № 1 для взрослых МБУЗ ГБ № 1 им. Н. А. Семашко г. Ростова-на-Дону, лаборатории санитарной микробиологии водных объектов и микробной экологии человека ФБУН РостовНИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора.

Пациентам был выполнен комплекс клинико-бактериологического методов исследования: сбор жалоб и анамнез заболевания, оториноларингологический осмотр, детальный анализ микрофлоры глотки.

Бактериологическое исследование состава микробиоценозов глотки больных, получавших Стелланин®, проводили непосредственно перед назначением препарата, а также через 5, 10 дней после его применения и через 1 мес. после окончания лечения. Бактериологическое исследование

состава микробиоценозов глотки проводилось в соответствии с приказом МЗ СССР № 535 от 1985 года «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». Материалом для исследования служили мазки со слизистой оболочки глотки, которые забирали стерильным стандартным ватным тампоном, натошак, строго соблюдая последовательность забора: правая небная миндалина, правая задняя небная дужка, левая задняя небная дужка, левая небная миндалина, задняя стенка глотки. Микробиологическое исследование забранного материала проводили в первые 2 ч после его забора. Материал исследовали путем посева на плотные питательные среды, используя метод тампон-штрих.

При лечении больных с ХКТФ был использован лекарственный препарат 1,3-диэтилбензимидазолий трийодида — Стелланин®, капли для местного применения и приема внутрь 4%. Стелланин® назначался 3 раза в день, натошак, не менее чем за 30 мин до еды. Непосредственно перед применением дозу препарата (20 капель) разводили в 50-ти мл кипяченой охлажденной воды. Полученным раствором пациенты сначала полоскали глотку, затем — принимали внутрь, 1 раз в день указанным раствором промывали лакуны небных миндалин. Курс лечения составлял 10 дней.

Статистическая обработка полученных данных выполнялась на персональном компьютере в программе STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США). Для сравнения непараметрических количественных показателей между группами использовали U-критерий Манна — Уитни. Для сравнения показателей, подчинявшихся нормальному закону распределения, применяли t-критерий Стьюдента. Различия признавались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Использование Стелланина® в комплексном лечении ХКТФ выявило снижение основных симптомов заболевания: нормализовалась температура тела, общее состояние, купировался болевой синдром, уменьшалась гиперемия, инфильтрация слизистой оболочки небных миндалин, задней стенки глотки, несколько уменьшалась гипертрофия небных миндалин и лимфатических фолликулов задней стенки глотки, гнойное отделяемое. Динамика основных симптомов заболевания, выраженная в балах, приведена в табл. 1.

Данные о составе микробиоценоза глотки больных в динамике лечения Стелланином® приведены в табл. 2.

Как видно из представленных в табл. 2 данных, использование Стелланина® уже через 5 дней его применения приводило к изменению состава микробиоценозов глотки больных ХКТФ. Наиболее значительно снижалось содержание в микробиоценозе золотистых стафилококков. Частота их обнаружения снизилась с $42,7 \pm 5,7\%$ до $12,0 \pm 3,7\%$ ($t=4,5$). Также статистически достоверно изменилось число находок β -гемолитических стрептококков (от $60,0 \pm 5,6$ до $24,0 \pm 4,7$; $t=4,9$), эшерихий $t=2,2$. Выявилась четко выраженная тенден-

ция к снижению частоты выявления грибов рода *Candida*, коринеформных бактерий, клебсиелл, из микробного очага исчезли полностью энтеробактерии, неферментирующие бактерии, стрептококки пневмонии.

Еще более выраженное действие Стелланина® отмечалось через 10 дней применения. В составе микробиоценоза значительно сократилось присутствие золотистых стафилококков (до $5,3 \pm 2,5\%$), коагулазоотрицательных стафилококков (до $16,0 \pm 4,5\%$), коринеформных бактерий (до $16,0 \pm 4,2\%$), грибов рода *Candida* (до $13,3 \pm 3,7\%$), клебсиелл. Однако следует отметить, что 10-дневное использование Стелланина® не приводило к исчезновению из состава микробной популяции α -гемолитических и негемолитических стрептококков. Частота обнаружения α -гемолитических стрептококков несколько уменьшалась на 5-й день (с $45,3 \pm 5,7\%$ до $29,3 \pm 5,2\%$), но умеренно возрастала к 10-му дню до $33,3 \pm 5,4\%$, аналогичная картина наблюдалась в отношении негемолитических стрептококков (% их выявления практически не изменяется). Возможно, это связано со способностью Стелланина® оказывать репаративное действие на лимфоидные образования глотки, способствующие восстановлению колонизационной резистентности.

Таблица 1. Динамика клинических симптомов у пациентов с ХКТФ
Table 1. Dynamics of clinical symptoms in patients with chronic tonsillopharyngitis

Показатель клинического статуса	Выраженность симптома (баллы)		
	Исходные данные	5-й день лечения	10-й день лечения
Общее состояние	1,2	0*	0
Температура тела	37,02	36,71	36,62
Болевой синдром	2,1	0,6*	0
Гипертрофия небных миндалин и лимфатических фолликулов задней стенки глотки	2,3	2	2
Гиперемия и инфильтрация небных миндалин и лимфатических фолликулов задней стенки глотки	2,8	1*	0
Гнойное отделяемое в лакунах небных миндалин	2,3	1*	0,4

Примечание: * — статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями при $p < 0,05$ (по t -критерию Стьюдента).

Note: * — statistically significant differences compared to the baseline values at $p < 0.05$ (by Student's T -test).

Таблица 2. Динамика качественного состава микробиотоза глотки больных ХКТФ на фоне лечения Стелланином®
Table 2. Dynamics of the qualitative composition of the pharyngeal microbiocenosis in patients with chronic tonsillorharyngitis during treatment with Stellanin®

Микроорганизмы	Срок наблюдения		До лечения		5-й день		10-й день		30-й день	
	Абс.	%±m	Абс.	%±m	Абс.	%±m	Абс.	%±m	Абс.	%±m
Стрептококки	α-гемолитические	34	45,3±5,7	22	29,3±5,2	25	33,3±5,4	30	46,9±6,2	
	β-гемолитические	45	60,0±5,6	18	24±4,9*	12	16±4,3*	10	15,6±4,4*	
	негемолитические	8	10,7±3,5	6	8,0±3,1	8	10,7±3,6	9	14,1±4,3	
Стафилококки	<i>Str. pneumoniae</i>	5	6,7±2,9	0	-	0	-	0	-	
	золотистые	32	42,7±5,7	9	12±3,7*	4	5,3±2,5*	0	-	
	коагулазо-отрицательные	24	32±5,4	15	20,0±4,6	12	16,0±4,2	20	31,2±5,7	
Энтеробактерии	<i>Moraxella</i>	13	17,3±5,3	6	8,0±3,1	0	0	3	4,7±2,7	
	<i>Sorulebacterium</i>	27	36±5,5	17	22,7±4,8	12	16,0±4,2	12	18,75±4,9	
	<i>E. coli</i>	8	10,7±3,5	2	2,7±1,8*	0	-	0	-	
Неферментирующие	<i>Kl. pneumoniae</i>	7	9,3±3,3	5	6,7±2,8	1	1,3±1,1	0	-	
	<i>Enterobacter</i> spp.	5	6,7±2,9	0	-	0	-	1	1,6±1,3	
	Неферментирующие	2	2,7±1,8	0	-	0	-	0	-	
Всего обследовано (чел.)	Грибы рода <i>Candida</i>	29	38,7±5,6	20	26,7±5,0	0	-	8	12,5±4,1	
			75	75	75	75	75	75	75	

Примечание: * — статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями при $p < 0,05$ (по t-критерию Стьюдента).
Note: * — statistically significant differences compared to the baseline values at $p < 0,05$ (by Student's T-test).

Подобное преобладание в составе микробиоценоза α -гемолитических и негемолитических стрептококков, коагулазоотрицательных стафилококков могло свидетельствовать о выраженной тенденции к восстановлению нормальной структуры микробного очага, о восстановлении колонизационной резистентности глотки.

Результаты, полученные в рамках данного исследования, соответствовали таковым в ранее проведенном комплексном анализе количественного и качественного состава микрофлоры глоточного лимфатического кольца с выделением, идентификацией микроорганизмов у пациентов с ХКТФ по сравнению со здоровыми людьми из контрольной группы [6]. Эти данные еще раз подтвердили роль β -гемолитических стрептококков как этиологически значимых для ХКТФ микроорганизмов.

Выводы

На сегодняшний день низкая эффективность фармакотерапии при ХКТФ является одной из наиболее значимых научно-

клинических задач оториноларингологии и клинической фармакологии.

В процессе лечения 1,3-диэтилбензидазолия трийодидом больных ХКТФ отмечается снижение частоты обнаружения и количественного содержания в составе микробиоценоза глотки условно-патогенных микробов, имеющих наиболее высокую потенциальную этиологическую значимость, намечается четко выраженная тенденция к восстановлению нормальной структуры микробного очага с преобладанием в его составе микроорганизмов, определяющих состояние колонизационной резистентности. Следовательно, патогенные микроорганизмы проявили чувствительность к данному ЛС, а это, в свою очередь, в современных условиях нарастания глобальной проблемы резистентности к антимикробным средствам является чрезвычайно важным. Эти данные позволяют рекомендовать применение 1,3-диэтилбензидазолия трийодида для повышения эффективности фармакотерапии пациентов с ХКТФ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Артюшкин С.А., Еремина Н.В., Рязанцев С.В. *Хронический тонзиллит*: Метод. реком. СПб, 2017:35. [Artjushkin S.A., Eremina N.V., Rjazancev S.V. *Hronicheskij tonzillit*: Metod. rekom. [Chronic tonsillitis. Guidelines]. St. Petersburg, 2017:35. (In Russian)].
2. Богомильский М.Р., Чистякова В.Р. *Детская оториноларингология*: Учеб., 3-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014:624. [Bogomil'skij M.R., Chistjakova V.R. *Detskaja otorinolaringologija*: ucheb. [Pediatric otorhinolaryngology: textbook], Ed. 3th, revised and add. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 2014:624. (In Russian)].
3. Вишняков В.В. *Оториноларингология*: Учеб. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014:328. [Vishnjakov V.V. *Otorinolaringologija*: Ucheb. [Otorhinolaryngology: textbook]. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 2014:328. (In Russian)].
4. Дайхес Н.А., Янов Ю.К. *Дифференциальная диагностика и лечение острого тонзиллофарингита*: Клини. реком. Национальная медицинская ассоциация отоларингологов. М., 2014. [Dajhes N.A., Janov Yu.K. *Differencial'naja diagnostika i lechenie ostrogo tonzillofaringita*: Klin. rekom. [Differential diagnosis and treatment of acute tonsillopharyngitis: clinical guidelines]. National Medical Association of Otolaryngologists. Moscow, 2014. (In Russian)].
5. Кривопалов А.А., Рязанцев С.В., Еремин С.А., Шамкина П.А. Клиническая эффективность препаратов бензидамина в терапии обострений хронического тонзиллофарингита. *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2019;2(II):36–41. [Krivopalov A.A., Ryazancev S.V., Eremin S.A., SHamkina P.A. Klinicheskaya effektivnost' preparatov benzydamina v terapii obostrenij hronicheskogo tonzillofaringita [Clinical efficacy of benzydamine preparations in the treatment of exacerbations of chronic tonsillopharyngitis]. *RMZH. Medicinskoe obozrenie [Russian Medical J. Medical Review]*. 2019;2(II):36–41. (In Russian)].
6. Мелоян Е.К., Сафроненко А.В., Ганцгорн Е.В., Хмара Л.Е., Куделина О.М., Чотий В.А. Комплексное исследование микрофлоры глоточного лимфатического кольца у пациентов с хроническим компенсированным тонзиллофарингитом. *Биомедицина*. 2020;16(3):86–91. [Meloyan E.K., Safronenko A.V., Gantsgorn E.V., Hmara L.E., Kudelina O.M., Chotij V.A. Complex study of the microflora of the tonsillar lymphatic ring in patients with compensated chronic tonsillopharyngitis. *Biomeditsina*. 2020;16(3):86–91. (In Russian)].

- Kudolina O.M., Chotij V.A. Kompleksnoe issledovanie mikroflory glochnogo limfaticeskogo kol'ca u pacientov s hronicheskim kompensirovannym tonzillofaringitom [Comprehensive study of the microflora of the pharyngeal lymphatic ring in patients with chronic compensated tonsillopharyngitis]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2020;16(3):86–91. (In Russian). DOI: 10.33647/2074-5982-16-3-86-91.
7. Пальчун В.Т., Гуров А.В., Гусева О.А. Патогенетические особенности формирования хронической тонзиллярной патологии. *Вестник оториноларингологии*. 2018;83(2):30–33. [Pal'chun V.T., Gurov A.V., Guseva O.A. Patogeneticheskie osobennosti formirovaniya hronicheskoy tonzillyarnoj patologii [Pathogenetic features of the formation of chronic tonsillar pathology]. *Vestnik otorinolaringologii [Bulletin of otorhinolaryngology]*. 2018;83(2):30–33. (In Russian). DOI: 10.17116/otorino201883230-33.
8. Пальчун В.Т., Магомедов М.М., Лучихин Л.А. *Оториноларингология: учеб., 3-е изд., перераб. и доп.* М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016:584. [Pal'chun V.T., Magomedov M.M., Luchihin L.A. *Otorinolaringologija: Ucheb.* [Otorhinolaryngology: textbook], Ed. 3th, revised and add. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 2016:584. (In Russian)].
9. Портенко Г.М., Портенко Е.Г., Шмаков Г.П. *Информационная технология в решении проблемы хронического тонзиллита*. Тверь: РИЦ ТГМУ, 2016. [Portenko G.M., Portenko E.G., Shmakov G.P. *Information technology in solving the problem of chronic tonsillitis*. Tver: RIC TSMU, 2016. (In Russian)].
10. Салтанова Ж.Е. Хронический тонзиллит и его бактериальные возбудители. *Кремлевская медицина. Клинический вестник*. 2013;2:206–212. [Saltanova Zh.E. Hronicheskij tonzillit i ego bakteri-al'nye vozбудiteli [Chronic tonsillitis and its bacterial pathogens]. *Kremlevskaya medicina. Klinicheskij vestnik [The Kremlin medicine. Clinical Bulletin]*. 2013;2:206–212. (In Russian)].
11. Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Топоркова Л.А. Место современных препаратов с направленным действием в лечении пациентов с тонзиллярной патологией. *Медицинский совет*. 2018;8:36–40. [Svistushkin V.M., Nikiforova G.N., Toporkova L.A. Mesto sovremennyh preparatov s napravlenным deystviem v lechenii pacientov s tonzillyarnoj patologiej [The role of modern drugs of targeted action in the management of patients with tonsillar pathology]. *Medicinskij sovet [Medical advice]*. 2018;8:36–40. (In Russian)].
12. Цыркунов В.М., Рыбак Н.А., Васильев А.В., Рыбак Р.Ф. Микробиологические и морфологические аспекты хронического тонзиллита. *Инфекционные болезни*. 2016;14(1):42–47. [Cyrkunov V.M., Rybak N.A., Vasil'ev A.V., Rybak R.F. Mikrobiologicheskie i morfologicheskie aspekty hronicheskogo tonzillita [Microbiological and morphological aspects of chronic tonsillitis]. *Infekcionnye bolezni [Infectious disease]*. 2016;14(1):42–47. (In Russian)].
13. Bochner R.E., Gangar M., Belamarich P.F. A clinical approach to tonsillitis, tonsillar hypertrophy, and peritonsillar and retropharyngeal abscesses. *Pediatrics in Review*. 2017;38(2):81–92.
14. Quintero B., Araque M., van der Gaast-de Jongh C., Escalona F., Correa M., Morillo-Puente S. Epidemiology of Streptococcus pneumoniae and Staphylococcus aureus colonization in healthy Venezuelan children. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2011;30:7–19.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мелоян Елена Константиновна, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: nmeloyan@yandex.com

Сафроненко Андрей Владимирович, д.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: andrejsaf@mail.ru

Ганцгорн Елена Владимировна*, к.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: gantsgorn@inbox.ru

Elena K. Meloyan, Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: nmeloyan@yandex.com

Andrey V. Safronenko, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: andrejsaf@mail.ru

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

Хмара Любовь Егоровна, к.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России

Lyubov E. Hmara, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia

Голубева Анна Олеговна, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России

Anna O. Golubeva, Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia

Джабр Мохамад Абас, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России

Mohamad A. Jabr, Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Лабораторкорм

*Более десяти лет коллектив нашей организации обеспечивает высококачественным **комбикормом для лабораторных животных** научные медицинские и учебные учреждения России.*

Реализуем:

- ✓ Оборудование для вивариев (клетки-стеллажи и др.);
- ✓ Подстилочный материал из древесной стружки;
- ✓ Зерно: пшеница, овес, ячмень,
- ✓ Премиксы.

НАШИ КОРМА
полнорационные,
сбалансированные по
аминокислотному составу,
минералам и витаминам



Доставка в любой регион России

Наш адрес: Москва, 2-й Вязовский проезд, д. 16, стр. 10

ООО «Лабораторкорм»

Телефоны: (495) 972-99-72, 972-16-87, 220-01-23

www.laboratorkorm.ru

ФГБУН НЦБМТ ФМБА России принял участие в ежегодном международном военно-техническом форуме «Армия-2021» (22–28 августа, КВЦ «Патриот»). На выставке представлены собственные разработки фармакологических средств и биологически активных веществ (лекарственные препараты «Лейтрагин», «Мускулив», спортивное питание «МиоАктив Спорт», БАД «Фламенко» и проч.), применяемые для спецконтингента ФМБА, Минобороны и других силовых ведомств. Желавшие смогли ознакомиться с направлениями работы Центра и нашими результатами, опубликованными в журнале «Биомедицина». Установлено множество новых деловых контактов. По итогам встреч с Руководителем ФМБА России В. И. Скворцовой, Министром обороны России С. К. Шойгу и Заместителем Председателя Правительства России Ю. И. Борисовым определены перспективы дальнейшего сотрудничества.

Мы благодарны организаторам Форума за возможность выступить в новом формате и надеемся продолжить работу в следующем году.

