

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

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

БИОМЕДИЦИНА

SCIENTIFIC JOURNAL

JOURNAL BIOMED

Том (Vol.) 18

2022

3





**Уважаемые коллеги,
авторы
и читатели журнала
«Биомедицина»!**

Третий выпуск журнала традиционно посвящён материалам нашей ежегодной межрегиональной научно-практической конференции «Биомедицина и биомоделирование», проведённой Научным центром биомедицинских технологий ФМБА России

25–26 мая 2022 года. Пленарное заседание и симпозиумы были организованы на трёх площадках: в НЦБМТ ФМБА России (Московская область), на базе СПХФУ Минздрава России (Санкт-Петербург) и РостГМУ Минздрава России (Ростов-на-Дону). В очном и дистанционном режимах с интересом заслушано и обсуждено 65 докладов на актуальные темы медико-биологических исследований. Мы благодарны всем коллегам, принявшим участие в работе конференции.

С видеопрезентациями докладов и полной электронной формой выпуска, содержащей 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/index.php/news/konferentsiya-2022>.

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

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»

БИОМЕДИЦИНА

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2005 г.
4 выпуска в год

2021, Том 18, № 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. 18, 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 (Москва, 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., акад. 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)

Сафроненко Андрей Владимирович, д.м.н., проф. (Ростов-на-Дону, Россия)

Сычёв Дмитрий Алексеевич, д.м.н., проф., акад. РАН (Москва, Россия)

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

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

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:	10.09.2022

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 (Moscow, 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., Acad. 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. Okovityi, 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)

Andrey V. Safronenko, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Rostov-on-Don, Russia)

Dmitriy A. Sychev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. 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. (Agricult.), 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:	10.09.2022

■ МЕТОДЫ И ТЕХНОЛОГИИ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

- Ю.В. Гурман, Н.С. Тропская, Т.В. Черненькая, Т.С. Попова**
Влияние ГАМК на микробиоту кишечника при метаболическом стрессе 10
- Е.И. Дерюшева, Е.А. Литус**
Оценка одиночных нуклеотидных полиморфизмов человеческого сывороточного альбумина, ассоциированных с болезнью Альцгеймера 14
- С.Ю. Карabanов, А.А. Кибиткина**
Изменения кишечной микробиоты мышей под воздействием ультразвукового стресса . 18
- Е.М. Колоскова, В.А. Езерский, О.Б. Жукова**
Получение бактериального рекомбинантного миостатина для индуцирования синтеза специфических к миостатину аутоантител 22
- А.С. Мелехова, Л.Г. Кубарская, А.Н. Петров, А.Я. Беспалов, А.Б. Верведа, А.В. Бельская, М.В. Мельникова**
Динамика изменений активности ацетилхолинэстеразы в головном мозге и крови крыс при фармакологической коррекции судорог, вызванных карбаматом 27
- Е.А. Орлова, И.Г. Кондратов, О.Б. Огарков**
Реконвалесценты COVID-19 имеют гуморальный иммунитет к белку E оболочки вируса SARS-COV-2 32
- О.И. Степанова, Р.А. Клёсов, Х.Х. Семёнов, И.А. Помыткин, В.Н. Каркищенко**
Новый диагностический подход для оценки тканевых изменений при сахарном диабете типа 2 у мышей с помощью прибора «ЛАЗМА СТ» 37
- Н.С. Тропская, Е.А. Кислякова, И.Г. Вилкова, Ю.В. Гурман, О.С. Кислицына, А.В. Жеребцов, Е.Н. Бородина, Т.В. Черненькая, Т.С. Попова**
Нарушения функционального состояния ЦНС, перистальтики кишечника и микробиоценоза при отравлении барбитуратами в эксперименте 45
- А.В. Шарabanов, Е.Г. Батоцыренова, В.А. Кашуро, М.Т. Гасанов, Ю.В. Комов**
Антиоксидантный эффект экстрактов пептидной природы с модифицированным высвобождением при световом десинхронозе 50

■ РЕЛЕВАНТНОЕ И АЛЬТЕРНАТИВНОЕ БИОМОДЕЛИРОВАНИЕ

- И.Г. Вилкова, Н.С. Тропская, Т.В. Черненькая, Т.С. Попова**
Электрическая активность тонкой кишки при экспериментальном моделировании гипохлоргидрии 58
- Д.В. Петров, А.А. Иванов, Е.В. Панина, Н.В. Петрова, Н.А. Ларюшина**
Малая длиннохвостая шиншилла – перспективная модель в биомедицине 62
- А.О. Шпаков, В.М. Бондарева, К.В. Деркач**
Гормональный и метаболический статус у самцов крыс с моделью метаболического синдрома, вызванной прерыванием грудного вскармливания в раннем постнатальном периоде 67

■ БИОРЕГУЛЯТОРЫ В МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЯХ

А.А. Бахтюков, К.В. Деркач, В.Н. Сорокоумов, А.О. Шпаков

Применение аллостерического агониста рецептора лютеинизирующего гормона для снижения эффективной дозы гонадотропина при лечении андрогенной недостаточности крыс с диабетом типа 1 72

**Н.С. Бендерский, А.В. Сафроненко, О.М. Куделина, Е.В. Ганцгорн,
А.В. Криштопа, А.О. Голубева, С.Э. Бабюк**

Биологическая активность фульвово́й кислоты: перспективы применения в медицине . 79

**О.В. Галзитская, А.В. Мачулин, Е.И. Дерюшева, А.В. Глякина, С.Ю. Гришин,
С.Р. Курпе, А.В. Панфилов, П.А. Домнин, С.В. Кравченко, С.А. Ермолаева**

Антимикробные пептиды на основе последовательностей бактериальных белков S1 как потенциальная замена антибиотикам 84

К.В. Деркач, В.М. Бондарева, Н.Е. Басова, А.О. Шпаков

С-пептид проинсулина улучшает метаболические и гормональные показатели у крыс с диабетом типа 2 с нормальным, но не повышенным, уровнем инсулина 90

**А.В. Мачулин, И.В. Косарев, В.С. Хлебников, Р.Н. Василенко,
В.А. Самойленко, С.Ю. Пчелинцев, В.М. Абрамов**

Ферментированный свекольный сок с использованием высокоактивного симбиотического консорциума пробиотических штаммов лактобацилл как специализированный продукт для питания лиц, работающих и проживающих в экстремальных условиях 95

■ ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОМЕДИЦИНЕ

Ю.С. Алексеева, Ю.Н. Мещерякова, Я.В. Шмакова, В.Ц. Болотова

Оценка влияния фитоадаптогенов на физическую работоспособность аутистических мышей-самок 99

В.Ц. Болотова, И.А. Титович, Е.Б. Шустов

Влияние янтарной соли фумарового эфира диэтилэтанолamina на когнитивные способности лабораторных животных 104

Д.Ю. Ивкин, А.А. Карпов

Экспериментальная оценка эффективности и безопасности нового производного пропандиовой кислоты с кардиотропным действием 109

**М.В. Мельникова, В.А. Кашуро, Е.Г. Батоцыренова, Л.Г. Кубарская, Е.А. Золотоверхая,
Т.А. Колбасова, О.А. Вакуненкова, А.С. Гладчук**

Влияние экстракта *Saccharina latissima* на показатели антиоксидантной системы крови крыс после отравления карбеназидом 113

С.В. Оковитый, Е.Б. Шустов

Экзогенные РНК как потенциальные фармакологические агенты 118

К.С. Остренко, О.А. Громова, В.В. Расташанский

Адаптогенные и нейропротективные свойства аскорбата лития 122

В.А. Приходько

Влияние орнитина аспартата и эмпаглифлозина на проявления мнестического дефицита при экспериментальном стеатогепатите 128

■ METHODS AND TECHNOLOGIES OF BIOMEDICAL RESEARCH

Yulia V. Gurman, Nataliya S. Tropuskaya, Tatyana V. Chernen'kaya, Tamara S. Popova
The Effect of GABA on the Gut Microbiota During Metabolic Stress 10

Evgeniya I. Deryusheva, Ekaterina A. Litu
Evaluation of Single-Nucleotide Polymorphisms in Human Serum Albumin Associated with Alzheimer's Disease 14

Sergey Yu. Karabanov, Anastasiya A. Kibitkina
Changes in the Gut Microbiota of Mice Under the Action of Ultrasonic-induced Stress 18

Elena M. Koloskova, Vadim A. Ezerskiy, Olga B. Zhukova
Preparation of Bacterial Recombinant Myostatin to Induce the Synthesis of Myostatin-Specific Autoantibodies 22

Aleksandra S. Melekhova, Larisa G. Kubarskaya, Aleksandr N. Petrov, Aleksandr Ya. Bespalov, Aleksej B. Verveda, Alisa V. Belskaya, Margarita V. Melnikova
Dynamics of Changes in Acetylcholinesterase Activity in the Brain and Blood of Rats during Pharmacological Correction of Seizures Caused by Carbamate 27

Elizaveta A. Orlova, Ilya G. Kondratov, Oleg B. Ogarkov
COVID-19 Convalescents Exhibit Humoral Immunity to SARS-COV-2 Envelope (E) Protein 32

Olga I. Stepanova, Roman A. Klesov, Khyzyr Kh. Semenov, Igor A. Pomytkin, Vladislav N. Karkischenko
A New Diagnostic Approach to Assessing Tissue Changes in Type 2 Diabetes Mellitus in Mice Using "LASMA ST" Device 37

Nataliya S. Tropuskaya, Ekaterina A. Kislyakova, Irina G. Vilkova, Yulia V. Gurman, Oksana S. Kislitsyna, Alexey V. Zerebtzov, Yevgeniya N. Borodina, Tatyana V. Chernen'kaya, Tamara S. Popova
Disorders of the Functional State of the Central Nervous System, Intestinal Peristalsis and Microbiocenosis in Experimental Barbiturate Poisoning 45

Andrey V. Sharabanov, Ekaterina G. Batotsyrenova, Vadim A. Kashuro, Melik T. Gasanov, Yuriy V. Komov
Antioxidant Effect of Modified-Release Peptide Extracts in Correcting Light Desynchronization 50

■ RELEVANT AND ALTERNATIVE BIOMODELLING

Irina G. Vilkova, Nataliya S. Tropuskaya, Tatyana V. Chernen'kaya, Tamara S. Popova
Small Bowel Electrical Activity in an Experimental Model of Hypochlorhydria 58

Dmitry V. Petrov, Alexey A. Ivanov, Elena V. Panina, Natalia V. Petrova, Nadezhda A. Laryushina
Chinchilla lanigera – a Promising Model in Biomedicine 62

Alexander O. Shpakov, Vera M. Bondareva, Kira V. Derkach
Hormonal and Metabolic Status of Male Rats with Metabolic Syndrome Model Induced by Interruption of Breastfeeding in the Early Postnatal Period 67

■ BIOREGULATORS IN MEDICAL TECHNOLOGIES

- Andrey A. Bakhtyukov, Kira V. Derkach, Viktor N. Sorokoumov, Alexander O. Shpakov**
Application of an Allosteric Agonist of the Lutheinizng Hormone Receptor for Reducing the Effective Dose of Gonadotropin in the Treatment of Androgen Insufficiency in Rats with Type 1 Diabetes 72
- Nikita S. Benderskiy, Andrey V. Safronenko, Oksana M. Kudelina, Elena V. Gantsgorn, Anna V. Krishtopa, Anna O. Golubeva, Svetlana E. Babyuk**
Biological Activity of Fulvic Acid: Prospects of Application in Medicine 79
- Oxana V. Galzitskaya, Andrey V. Machulin, Evgeniya I. Deryusheva, Anna V. Glyakina, Sergei Yu. Grishin, Stanislav R. Kurpe, Alexander V. Panfilov, Pavel A. Domnin, Sergey V. Kravchenko, Svetlana A. Ermolaeva**
Antimicrobial Peptides Based on Bacterial S1 Protein Sequences as a Potential Alternative to Antibiotics 84
- Kira V. Derkach, Vera M. Bondareva, Natalia E. Basova, Alexander O. Shpakov**
Proinsulin C-Peptide Improves Metabolic and Hormonal Parameters in Rats with Type 2 Diabetes Mellitus Having Normal but Not Elevated Insulin Levels 90
- Andrey V. Machulin, Igor V. Kosarev, Valentin S. Khlebnikov, Raisa N. Vasilenko, Vladimir A. Samoilenko, Sergey Yu. Pchelintsev, Vyacheslav M. Abramov**
Fermented Beet Juice with a Highly Active Symbiotic Consortium of Probiotic Lactobacillus Strains as a Specialized Product for Nutrition of People Working and Living in Extreme Conditions 95

■ PRECLINICAL RESEARCH IN BIOMEDICINE

- Yuliya S. Alekseeva, Yuliya N. Meshcheryakova, Yana V. Shmakova, Vera Ts. Bolotova**
Evaluation of the Effect of Phyto-Adaptogens on the Performance Capability of Outbred Female Mice 99
- Vera Ts. Bolotova, Irina A. Titovich, Evgeniy B. Shustov**
Effect of the Succinic Salt of Diethylethanolamine Fumar Ester on Cognitive Functions of Laboratory Animals. 104
- Dmitry Yu. Ivkin, Andrew A. Karpov**
Experimental Evaluation of the Effectiveness and Safety of a New Propandic Acid Derivative Exhibiting Cardiotropic Action 109
- Margarita V. Melnikova, Vadim A. Kashuro, Ekaterina G. Batotsyrenova, Larisa G. Kubarskaya, Ekaterina A. Zolotoverkhaia, Taisiia A. Kolbasova, Olga A. Vakunenkova, Aleksey S. Gladchuk**
Effect of *Saccharina latissima* Extract on the Antioxidant System Parameters of Rat Blood After Exposure to Carbendazim 113
- Sergey V. Okovitiy, Evgeniy B. Shustov**
Exogenous RNAs as Potential Pharmacological Agents 118
- Konstantin S. Ostrenko, Olga A. Gromova, Vyacheslav V. Rastashansky**
Adaptogenic and Neuroprotective Properties of Lithium Ascorbate 122
- Veronika A. Prikhodko**
Effects of Ornithine Aspartate and Empagliflozin on Memory Deficit Symptoms in Experimental Steatohepatitis 128



ВЛИЯНИЕ ГАМК НА МИКРОБИОТУ КИШЕЧНИКА ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Ю.В. Гурман¹, Н.С. Тропская^{1,2,*}, Т.В. Черненькая¹, Т.С. Попова¹

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

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

В экспериментах на 47 крысах на модели метаболического стресса, вызванного пищевой депривацией, оценено влияние гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) на микробиоту кишечника. При метаболическом стрессе выявлено изменение качественного и количественного состава микробиоты слепой кишки: обнаружено перераспределение условно-патогенной флоры, рост патогенных микроорганизмов, а также снижение численности лактобацилл и бифидобактерий. Ежедневное введение ГАМК в дозе 70 мг/кг на фоне метаболического стресса приводило к снижению численности патогенов и нормализации численности нормальных эубионтов в слепой кишке.

Ключевые слова: метаболический стресс, пищевая депривация, гамма-аминомасляная кислота, микробиота кишечника

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Гурман Ю.В., Тропская Н.С., Черненькая Т.В., Попова Т.С. Влияние ГАМК на микробиоту кишечника при метаболическом стрессе. *Биомедицина*. 2022;18(3):10–13. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-10-13>

Поступила 04.04.2022

Принята после доработки 18.04.2022

Опубликована 10.09.2022

THE EFFECT OF GABA ON THE GUT MICROBIOTA DURING METABOLIC STRESS

Yulia V. Gurman¹, Nataliya S. Tropkaya^{1,2,*}, Tatyana V. Chernen'kaya¹, Tamara S. Popova¹

¹N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Care Department
129090, Russian Federation, Moscow, Bolshaya Sukharevskaya Square, 3

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

The effect of gamma-aminobutyric acid (GABA) on the gut microbiota was evaluated in experiments on 47 rats with metabolic stress (MS) induced by food deprivation. MS was found to be associated with changes in the qualitative and quantitative composition of the caecum microbiota, including the redistribution of opportunistic flora, the growth of pathogenic microorganisms, as well as a decreased number of lactobacilli and bifidobacteria. Daily administration of GABA at a dose of 70 mg/kg during MS led to a decrease in the number of pathogens, thus leading to the restoration of normal eubionts in the cecum.

Keywords: metabolic stress, food deprivation, gamma-aminobutyric acid, intestinal microbiota

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

For citation: Gurman Y.V., Tropkaya N.S., Chernen'kaya T.V., Popova T.S. The Effect of GABA on the Gut Microbiota During Metabolic Stress. *Journal Biomed.* 2022;18(3):10–13. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-10-13>

Submitted 04.04.2022

Revised 18.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Хорошо известно, что состав пищи, дефицит или избыток нутриентов влияют на разнообразие и профиль кишечной микробиоты организма хозяина [2]. Экзогенно обусловленная алиментарная недостаточность характеризуется выраженной потерей массы тела, уменьшением подкожного жира, прогрессирующими изменениями всех видов обмена веществ. Возникающие при этом нарушения физиологических функций иллюстрируют развитие метаболического стресса [3]. При голодании наблюдаются существенные изменения как в качественном и количественном составе микробиоты, так и в синтезируемых ею метаболитах [8]. Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) относится к аминокислотам, которые выполняют нейромедиаторную функцию, и синтезируется некоторыми штаммами лактобацилл и бифидобактерий [4, 6, 7]. В организме человека и животных микробная ГАМК необходима для нормализации болевой чувствительности кишечника, снижения выработки провоспалительных цитокинов и подавлении активности Т-лимфоцитов [5]. При дисбалансе кишечной микробиоты нередко отмечается снижение микробного синтеза ГАМК [1]. Поэтому, вероятно, введение экзогенной ГАМК будет способствовать нормализации кишечной микробиоты.

Целью работы явилась оценка влияния ГАМК на микробиоту кишечника при метаболическом стрессе.

Материалы и методы

Исследования выполнены на 47 крысах-самцах Wistar массой тела 340–390 г

в возрасте 12 мес. Протокол исследования был одобрен локальным комитетом по биомедицинской этике НИИ СП им. Н.В. Склифосовского.

Все животные содержались в лаборатории в контролируемых условиях окружающей среды при температуре 20–24 °С и влажности 45–65%, с режимом освещенности 12/12 (с 8⁰⁰ до 20⁰⁰ — свет, с 20⁰⁰ до 8⁰⁰ — сумеречное освещение). До начала эксперимента животные имели свободный доступ к еде и воде.

До начала экспериментов проводили операционную подготовку крыс. Под наркозом проводили срединную лапаротомию. В тощую кишку в 5 см от связки Трейтца устанавливали зонд для энтерального введения растворов. Зонд с помощью специальных игл-проводников выводили из брюшной полости через мягкие ткани брюшной стенки и тазовой области под кожей хвоста наружу. Брюшную полость послойно ушивали наглухо. Каждую крысу размещали в индивидуальной экспериментальной клетке. Эксперимент проводили через 7 дней после вживления зонда.

В эксперименте была использована модель метаболического стресса (МС) — пищевой депривации со свободным доступом к воде.

Было сформировано две группы. Контрольной группе ежедневно однократно в зонд вводили 1 мл дистиллированной воды, а опытной группе — ежедневно однократно 1 мл р-ра ГАМК в дозе 70 мг/кг. Животных выводили из эксперимента летальной дозой наркоза, по 6–7 животных каждой группы на 4-е, 7-е и 10-е сут. от начала пищевой депривации. Также дополнительно была сформирована группа ин-

тактных животных (n=8). Образцы слепой кишки были взяты для бактериологического анализа во всех группах. Данные представлялись в виде медианы и перцентилей. Для статистического анализа использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Статистически значимыми считались значения с $p < 0,05$.

Результаты исследований

В контрольной группе на 4-е сут. пищевой депривации в содержимом слепой кишки по сравнению с интактными животными наблюдалось появление *Klebsiella* spp. в титре 10^2 КОЕ/мл (0; 10^3), выявлялось исчезновение *Staphylococcus* spp., статистически значимо возросла численность *Enterococcus* spp. Численность *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. имела тенденцию к снижению. На 7-е сут. характер изменений состава микрофлоры слепой кишки остался прежним. Однако численность *Lactobacillus* spp. статистически значимо снизилась до 10^5 КОЕ/мл (0; 10^5) по сравнению с интактными животными — 10^7 КОЕ/мл (10^5 ; 10^7). На 10-е сут. высевались *Klebsiella* spp. в титре 10^3 КОЕ/мл (0; 10^4), появлялись *Staphylococcus* spp. в нормальных титрах, численность *Bifidobacterium* spp. статистически значимо снизилась до 10^4 КОЕ/мл (0; 10^4) по сравнению с интактными животными — 10^6 КОЕ/мл (10^4 ; 10^6).

В опытной группе на 4-е сут. пищевой депривации в содержимом слепой кишки по сравнению с интактными животными наблюдалось увеличение *Enterococcus* spp. —

10^8 КОЕ/мл (10^7 ; 10^8) против 10^5 КОЕ/мл (10^4 ; 10^5) ($p < 0,05$) и *E. coli* — 10^7 КОЕ/мл (10^6 ; 10^7) против 10^5 КОЕ/мл (10^5 ; 10^5) ($p < 0,05$). При этом не обнаруживались *Klebsiella* spp., сохранялась численность *Staphylococcus* spp., *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. на уровне значений интактных животных. На 7-е сут. состав микрофлоры слепой кишки изменялся. Обнаруживалось появление *Klebsiella* spp. у 2 из 6 животных. Количество *E. coli* оставалось выше уровня нормальных значений. Численность *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. соответствовала уровню значений интактных животных. На 10-е сут. качественный и количественный состав микрофлоры слепой кишки практически соответствовал интактным животным, за исключением *Klebsiella* spp., которые высевались только у 1 из 6 животных в титре 10^2 КОЕ/мл.

Выводы

1. При метаболическом стрессе, вызванном пищевой депривацией, происходит изменение качественного и количественного состава микрофлоры слепой кишки, что проявляется перераспределением условно-патогенной флоры, снижением численности нормальных эубионтов и появлением патогенных микроорганизмов.

2. Введение ГАМК на фоне метаболического стресса, вызванного пищевой депривацией, приводит к нормализации численности нормальных эубионтов и снижению численности патогенов в слепой кишке.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Бабин В.И., Домарадский И.В., Дубинин А.В., Кондракова О.А. Биохимические и молекулярные аспекты симбиоза человека и его микрофлоры. *Российский химический журнал (ЖРХО им. Менделеева)*. 1994;38(6):66-78. [Babin V.I., Domaradskij I.V., Dubinin A.V., Kondrakova O.A. Biokhimicheskie i molekulyarnye aspekty simbioza cheloveka i ego mikroflory [Biochemical and molecular aspects of human symbiosis and microflora]. *Rossijskij himicheskij zhurnal (ZhRHO im. Mendeleeva)* [Russian Chemical Journal (Mendeleev JRCHC)]. 1994;38(6):66-78. (In Russian)].
2. Зверев В.В., Максимова О.В., Гервазиева В.В. Микробиота кишечника и её связь с ожирением. *Инфекционные болезни*. 2014;12(3):69-79. [Zverev V.V., Maksimova O.V., Gervazieva V.B.

- Mikrobiota kishechnika i ee svyaz' s ozhireniem [Gut microbiota and its relationship with obesity]. *Infektsionnye bolezni [Infectious diseases]*. 2014;12(3):69-79 (In Russian)].
3. Кирбаева Н.В., Евстратова В.С., Ригер Н.А., Абрамова А.Ю., Перцов С.С., Васильев А.В. Цитокиновый профиль крови у крыс с разными поведенческими характеристиками в условиях метаболического стресса. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018;166(10):417-420. [Kirbaeva N.V., Evstratova V.S., Riger N.A., Abramova A.Yu., Pertsov S.S., Vasil'ev A.V. Tsitokinovuyu profil' krovi u kryс s raznymi povedencheskimi kharakteristikami v usloviyakh metabolicheskogo stressa [Blood cytokine profile in rats with different behavioral characteristics after metabolic stress]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2018;166(10):417-420. (In Russian)].
 4. Юнес Р.А., Полуэктова Е.У., Дьячкова М.С., Козловский Ю.Е., Орлова В.С., Даниленко В.Н. Отбор бактерий-симбионтов рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* по их способности синтезировать гамма-аминомасляную кислоту-один из подходов в получении психобиотиков. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности*. 2016;(4):51-59. [Yunes R.A., Poluektova E.U., D'yachkova M.S., Kozlovskiy Yu.E., Orlova V.S., Danilenko V.N. Otbor bakteriy-simbiontov roda *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* po ikh sposobnosti sintezirovat' gamma-aminomaslyanuyu kislotu-odin iz podkhodov v poluchenii psikhobiotikov [Selection of gamma-aminobutyric acid producing lactobacillus and bifidobacterium simbiotic strains as potential ppsychobiotics]. *Vestnik Rossijskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Ekologiya i bezopasnost' zhiznedeyatel'nosti [RUDN J. of Ecology and Life Safety]*. 2016;(4):51-59. (In Russian)].
 5. Auteri M., Zizzo M.G., Serio R. GABA and GABA receptors in the gastrointestinal tract: from motility to inflammation. *Pharmacological research*. 2015;93: 11-21. DOI: 10.1016/j.phrs.2014.12.001.
 6. Li H., Gao D., Cao Y., Xu H. A high γ -aminobutyric acid-producing *Lactobacillus brevis* isolated from Chinese traditional paocai. *Ann. Microbiol.* 2008;58(4):649-653. DOI: 10.1007/BF03175570.
 7. Li H., Cao Y. Lactic acid bacterial cell factories for gamma-aminobutyric acid. *Amino acids*. 2010;39(5):1107-1116. DOI: 10.1007/s00726-010-0582-7.
 8. Sonoyama K., Fujiwara R., Takemura N., Ogasawara T., Watanabe J., Ito H., Morita T. Response of gut microbiota to fasting and hibernation in Syrian hamsters. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009;75(20):6451-6456. DOI: 10.1128/AEM.00692-09.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Гурман Юлия Валерьевна, ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: julka_gurman95@mail.ru

Тропская Наталия Сергеевна*, д.б.н., ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», ФГБОУ ВО «Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет)»;
e-mail: ntropskaya@mail.ru

Черненькая Татьяна Витальевна, к.м.н., ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: chernenkayat@rambler.ru

Попова Тамара Сергеевна, д.б.н., проф., ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: popovanutr@mail.ru

Yulia V. Gurman, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Care Department;
e-mail: julka_gurman95@mail.ru

Nataliya S. Tropuskaya*, Dr. Sci. (Biol.), N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Care Department; Moscow Aviation Institute (National Research University);
e-mail: ntropskaya@mail.ru

Tatyana V. Chernen'kaya, Cand. Sci. (Med.), N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Care Department;
e-mail: chernenkayat@rambler.ru

Tamara S. Popova, Dr. Sci. (Biol.), Prof., N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Care Department;
e-mail: popovanutr@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



ОЦЕНКА ОДИНОЧНЫХ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА, АССОЦИИРОВАННЫХ С БОЛЕЗНЬЮ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Е.И. Дерюшева*, Е.А. Литус

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

Человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) является природным буфером амилоидного β -пептида ($A\beta$), ключевого фактора развития болезни Альцгеймера (БА). Увеличение сродства ЧСА к $A\beta$ может достигаться путём насыщения ЧСА низкомолекулярными лигандами, такими как серотонин, отдельные жирные кислоты. Анализ геномных данных экзомов (WES), ассоциированных с БА (база данных ADSP), выявил наличие однонуклеотидного полиморфизма гена ЧСА в центрах связывания ибупрофена, арахидоновой и олеиновой кислот. Исследование свойств найденных генетических вариантов ЧСА позволит определить варианты, восприимчивые к модулирующему воздействию лигандов ЧСА, повышающих его сродство к $A\beta$.

Ключевые слова: однонуклеотидный полиморфизм, человеческий сывороточный альбумин, болезнь Альцгеймера

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование работы: исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 20-74-10072.

Для цитирования: Дерюшева Е.И., Литус Е.А. Оценка одиночных нуклеотидных полиморфизмов человеческого сывороточного альбумина, ассоциированных с болезнью Альцгеймера. *Биомедицина*. 2022;18(3):14–17. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-14-17>

Поступила 08.04.2022

Принята после доработки 18.04.2022

Опубликована 10.09.2022

EVALUATION OF SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN HUMAN SERUM ALBUMIN ASSOCIATED WITH ALZHEIMER'S DISEASE

Evgeniya I. Deryusheva*, Ekaterina A. Litus

*Federal Research Center
"Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences"
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Nauki Ave., 3*

Human serum albumin (HSA) is a natural buffer for amyloid β peptide ($A\beta$), which is a key factor in the development of Alzheimer's disease (AD). An increase in HSA affinity to $A\beta$ can be achieved via HSA saturation with low-molecular-weight ligands, such as serotonin or specific fatty acids. The conducted analysis of the genomic data of exomes (WES) associated with AD (ADSP database) revealed the presence of a single-nucleotide polymorphism of the HSA gene at the binding sites of ibuprofen, arachidonic and oleic acids. Research into the properties of the revealed genetic variants of HSA should be carried out to determine those variants that are susceptible to the modulatory action of HSA ligands, thus increasing its affinity to $A\beta$.

Keywords: single nucleotide polymorphism, human serum albumin, Alzheimer's disease

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

Funding: research was funded by a grant from the Russian Science Foundation, No. 20-74-10072.

For citation: Deryusheva E.I., Litus E.A. Evaluation of Single-Nucleotide Polymorphisms in Human Serum Albumin Associated with Alzheimer's Disease. *Journal Biomed.* 2022;18(3):14–17. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-14-17>

Submitted 08.04.2022

Revised 18.04.2022

Published 10.09.2022

Болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее распространённой причиной деменции и относится к категории социально значимых заболеваний (постановление Правительства РФ № 715 от 01.12.2004). Общеизвестна ключевая роль амилоидного бета-пептида (Аβ) в развитии БА. Повышение продукции Аβ и снижение скорости его выведения приводят к его накоплению в тканях головного мозга и образованию амилоидных бляшек. Одним из перспективных подходов к терапии БА является содействие выведению Аβ из центральной нервной системы путём воздействия на человеческий сывороточный альбумин (ЧСА), который рассматривается в качестве «депо» Аβ. Данный подход может быть реализован за счёт увеличения сродства ЧСА к Аβ путём воздействия лигандов ЧСА, таких как отдельные жирные кислоты и серотонин [10, 11]. В то же время остаётся невыясненным вклад генетических вариантов ЧСА в транспорт и депонирование Аβ в физиологических и патологических условиях.

Однонуклеотидный полиморфизм (single nucleotide polymorphism, SNP) представляет собой замену одного нуклеотидного основания на другое, что может привести к миссенс- или нонсенс-мутации. Ведутся активные исследования, посвящённые выявлению связей SNP с различными заболеваниями, в т. ч. с БА [8, 14]. Так, SNP rs75152012 (dbSNP <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>) в гене *ALB* ЧСА (chr4:74262831-

74287129) ассоциирован с анальбуминемией [2, 13].

Для оценки генетических вариантов *ALB*, ассоциированных с БА, нами был проведён анализ геномных данных проекта ADSP (Alzheimer's Disease Sequencing Project, <https://www.niagads.org/adsp/content/home>). Исследуемый набор данных основан на полноэкзомном секвенировании (WES) 10913 несвязанных индивидуумов с БА. Было выявлено 92 случая SNP гена *ALB*, из которых 63 записи аннотированы в базе данных dbSNP. Оценка влияния неаннотированных 29 случаев SNP с использованием онлайн-сервиса PredictSNP (<https://loschmidt.chemi.muni.cz/predictsnp/>) показала, что 18 SNP приводят к миссенс-мутациям, а 5 SNP — к синонимичным заменам (остальные случаи соответствуют заменам в интронных участках).

Такие лиганды ЧСА, как серотонин, олеиновая и арахидоновая кислоты [10, 11], ибупрофен (данные не опубликованы), модулируют его взаимодействие с Аβ. Анализ сайтов связывания перечисленных лигандов ЧСА выявил пересечение SNP гена *ALB* с центрами связывания ибупрофена, олеиновой и арахидоновой кислот. Так, для остатка ЧСА V506, расположенного в центре связывания ибупрофена, найден SNP rs571711778 (4:74283893:T:C; V>A). Остаткам V70, R210, R233 центров связывания арахидоновой кислоты соответствуют аннотированные в dbSNP SNP rs368276725 (4:74272416:G:A; V>I),

rs58624704 (4:74276042:G:A; R>Q) и rs756853717 (4:74276111:G:C; R>T). В центрах связывания ЧСА с олеиновой кислотой остатки V70, R210, R242 и V600 соответствуют аннотированным SNP rs368276725 (4:74272416:G:A; V>I), rs58624704 (4:74276042:G:A; R>Q), rs75002628 (4:74277724:G:A; R>H) и rs201202407 (4:74285983:G:C; V>L). Кроме того, для остатка V47, расположенного в центре связывания олеиновой кислоты, выявлен неаннотированный SNP 4:74272348:T:C, V>A.

Воздействие ибупрофена, олеиновой и арахидоновой кислот на взаимодействие ЧСА-Аβ и потенциальная роль в этом различных генетических вариантов ЧСА имеют как фундаментальную, так и практическую значимость. Накопленные клинические и эпидемиологические данные, а также данные, полученные на животных моделях, указывают на связь этих лигандов с развитием БА. Эпидемиологические исследования показывают, что длительный приём ибупрофена снижает риск развития

БА [9, 15], что согласуется с данными, полученными на животных моделях, по снижению количества отложений Аβ в центральной нервной системе под влиянием приёма ибупрофена [3, 6, 12]. Согласно результатам клинических исследований, у пациентов с диагнозом БА уровень линолевой кислоты снижен в 6 раз по сравнению с контрольной группой [5]. В то же время диета, содержащая линолеву кислоту, предотвращает накопление Аβ в головном мозге мышей [4]. Аналогичные исследования на животных показали облегчение симптомов БА на фоне диеты с арахидоновой кислотой, однако накопленные данные неоднозначны и требуют дополнительных исследований [1, 7].

Изучение воздействия обнаруженных нами SNP в гене *ALB* на эффекты лигандов ЧСА, влияющих на его взаимодействие с Аβ, позволит выявить генетические варианты ЧСА, наиболее подверженные этому типу регуляции, что позволит разработать новые персонализированные подходы к профилактике и терапии БА.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Amtul Z., Uhrig M., Wang L., Rozmahel R.F., Beyreuther K. Detrimental effects of arachidonic acid and its metabolites in cellular and mouse models of Alzheimer's disease: Structural insight. *Neurobiol. Aging*. 2012;33(4):831.e821–831.e831. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2011.07.014.
2. Becker-Cohen R., Belostotsky R., Ben-Shalom E., Feinstein S., Rinat C., Frishberg Y. Congenital albuminemia with acute glomerulonephritis: A diagnostic challenge. *Pediatr. Nephrol.* 2009;24(2):403–406. DOI: 10.1007/s00467-008-0993-9.
3. Choi J.K., Jenkins B.G., Carreras I., Kaymakcalan S., Cormier K., Kowall N.W., Dedeoglu A. Anti-inflammatory treatment in AD mice protects against neuronal pathology. *Exp. Neurol.* 2010;223(2):377–384. DOI: 10.1016/j.expneurol.2009.07.032.
4. Cole G.M., Ma Q.L., Teter B., Jones M., Frautschy S.A. Dietary linoleic acid differentially influences brain fads activities increasing an N-6 metabolite that inhibits inflammation and promotes amyloid-β clearance. *Alzheimers Dement.* 2017;13(7):982. DOI: 10.1016/j.jalz.2017.06.1335.
5. Cunnane S.C., Schneider J.A., Tangney C., Tremblay-Mercier J., Fortier M., Bennett D.A., Morris M.C. Plasma and brain fatty acid profiles in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 2012;29(3):691–697. DOI: 10.3233/JAD-2012-110629.
6. Heneka M.T., Sastre M., Dumitrescu-Ozimek L., Hanke A., Dewachter I., Kuiperi C., O'Banion K., Klockgether T., Van Leuven F., Landreth G.E. Acute treatment with the PPARγ agonist pioglitazone and ibuprofen reduces glial inflammation and Aβ1-42 levels in APPV717I transgenic mice. *Brain*. 2005;128(Pt 6):1442–1453. DOI: 10.1093/brain/awh452.
7. Hosono T., Mouri A., Nishitsuji K., Jung C.G., Kontani M., Tokuda H., Kawashima H., Shibata H., Suzuki T., Nabehsima T., Michikawa M. Arachidonic or docosahexaenoic acid diet prevents memory impairment in Tg2576 mice. *J. Alzheimers Dis.* 2015;48(1):149–162. DOI: 10.3233/jad-150341.
8. Huang Y.C., Lin Y.J., Chang J.S., Chen S.Y., Wan L., Sheu J.J., Lai C.H., Lin C.W., Liu S.P., Chen C.P., Tsai F.J. Single nucleotide polymorphism rs2229634

- in the ITPR3 gene is associated with the risk of developing coronary artery aneurysm in children with Kawasaki disease. *Int. J. Immunogenet.* 2010;37(6): 439–443. DOI: 10.1111/j.1744-313X.2010.00943.x.
9. in t' Veld B.A., Ruitenberg A., Hofman A., Launer L.J., van Duijn C.M., Stijnen T., Breteler M.M., Stricker B.H. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the risk of Alzheimer's disease. *New Eng. J. Med.* 2001;345(21):1515–1521. DOI: 10.1056/NEJMoa010178.
10. Litus E.A., Kazakov A.S., Deryusheva E.I., Nemashkalova E.L., Shevelyova M.P., Nazipova A.A., Permyakova M.E., Raznikova E.V., Uversky V.N., Permyakov S.E. Serotonin promotes serum albumin interaction with the monomeric amyloid β peptide. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(11):5896. DOI: 10.3390/ijms22115896.
11. Litus E.A., Kazakov A.S., Sokolov A.S., Nemashkalova E.L., Galushko E.I., Dzhus U.F., Marchenkov V.V., Galzitskaya O.V., Permyakov E.A., Permyakov S.E. The binding of monomeric amyloid β peptide to serum albumin is affected by major plasma unsaturated fatty acids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019;510(2):248–253. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.01.081.
12. McKee A.C., Carreras I., Hossain L., Ryu H., Klein W.L., Oddo S., LaFerla F.M., Jenkins B.G., Kowall N.W., Dedeoglu A. Ibuprofen reduces Abeta, hyperphosphorylated tau and memory deficits in Alzheimer mice. *Brain Res.* 2008;1207:225–236. DOI: 10.1016/j.brainres.2008.01.095.
13. Neuhaus T.J., Stallmach T., Genewein A. A boy with congenital analbuminemia and steroid-sensitive idiopathic nephrotic syndrome: An experiment of nature. *Eur. J. Pediatrics.* 2008;167(9):1073–1077. DOI: 10.1007/s00431-007-0620-y.
14. Vacher M., Porter T., Villemagne V.L., Milicic L., Peretti M., Fowler C., Martins R., Rainey-Smith S., Ames D., Masters C.L., Rowe C.C., Doecke J.D., Laws S.M. Validation of a priori candidate Alzheimer's disease SNPs with brain amyloid-beta deposition. *Sci. Rep.* 2019;9(1):17069. DOI: 10.1038/s41598-019-53604-5.
15. Vlad S.C., Miller D.R., Kowall N.W., Felson D.T. Protective effects of NSAIDs on the development of Alzheimer disease. *Neurology.* 2008;70(19):1672–1677. DOI: 10.1212/01.wnl.0000311269.57716.63.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Дерюшева Евгения Игоревна*, к.ф.-м.н., ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований РАН»;
e-mail: evgenia.deryusheva@gmail.com

Литус Екатерина Андреевна, к.м.н., ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований РАН»;
e-mail: elitus@gmail.com

Evgeniya I. Deryusheva*, Cand. Sci. (Phis.-Math.), Federal Research Center “Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences”;
e-mail: evgenia.deryusheva@gmail.com

Ekaterina A. Litus, Cand. Sci. (Med.), Federal Research Center “Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences”;
e-mail: elitus@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-18-21>



ИЗМЕНЕНИЯ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ МЫШЕЙ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ УЛЬТРАЗВУКОВОГО СТРЕССА

С.Ю. Карбанов*, А.А. Кибиткина

ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
109316, Российская Федерация, Москва, ул. Талалихина, 26

Изучено влияние ультразвукового стресса на состав кишечной микробиоты мышей линии C57BL/6. Показано, что воздействие такого вида стресса смещает состав кишечной микробиоты в сторону фирмикутов на уровне филума, на уровне семейства наблюдается повышение *Lachnospiraceae* на 67,43%, *Rikenellaceae* — на 39,29%, а также снижение *Bacteroidaceae* на 64,75%, *Prevotellaceae* — на 38,51%. Наибольшие изменения под воздействием стресса выявлены на уровне рода: из 28 идентифицированных родов значительные изменения фиксировали в 13.

Ключевые слова: кишечная микробиота, ультразвуковой стресс, мыши C57BL/6

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования: НИР FNEN-2019-0008 государственного задания ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр пищевых систем им. В.М. Горбатова».

Для цитирования: Карбанов С.Ю., Кибиткина А.А. Изменения кишечной микробиоты мышей под воздействием ультразвукового стресса *Биомедицина*. 2022;18(3):18–21. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-18-21>

Поступила 01.03.2022

Принята после доработки 18.03.2022

Опубликована 10.09.2022

CHANGES IN THE GUT MICROBIOTA OF MICE UNDER THE ACTION OF ULTRASONIC-INDUCED STRESS

Sergey Yu. Karabanov*, Anastasiya A. Kibitkina

V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS
109316, Russian Federation, Moscow, Talalikhina Str., 26

The effect of ultrasound-induced stress on the gut microbiota composition of C57BL/6 mice was studied. Under the action of this type of stress, the gut microbiota composition shifts towards firmicutes at the phylum level. At the family level, an increase in *Lachnospiraceae* by 67.43%, *Rikenellaceae* by 39.29%, as well as a decrease in *Bacteroidaceae* by 64.75% and *Prevotellaceae* by 38.51%. is observed. The most prominent changes under the action of stress were revealed at the genus level: out of 28 identified genera, significant changes were recorded in 13.

Keywords: gut microbiota, ultrasound-induced stress, C57BL/6 mice

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

Funding: the research topic No. FNEN-2019-0008 of the state assignment of the V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences.

For citation: Karabanov S.Yu., Kibitkina A.A. Changes in the Gut Microbiota of Mice Under the Action of Ultrasonic-induced Stress. *Journal Biomed.* 2022;18(3):18–21. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-18-21>

Submitted 01.03.2022

Revised 18.03.2022

Published 10.06.2022

Введение

На сегодняшний день не вызывает сомнения тот факт, что стресс воздействует на состав кишечной микробиоты. Известно, что кишечная микрофлора, а также продукты её метаболизма способны влиять на некоторые функции организма, такие как синтез гормонов или нейромедиаторов, а также воздействовать на физиологические и поведенческие реакции мозга. Понимание закономерностей изменения кишечной микрофлоры при воздействии стресса может помочь в поиске методов коррекции таких поведенческих изменений. Следует иметь в виду, что исследования влияния стресса на организм в большинстве случаев проводятся на мышах, поэтому вопрос о динамике изменения кишечной микрофлоры именно этих лабораторных животных под воздействием стресса является актуальным и недостаточно освещённым.

Цель работы — изучить влияние ультразвукового стресса на кишечную микробиоту мышей.

Материалы и методы

Исследования проводили на самцах мышей линии C57BL/6 конвенционального статуса (n=20) в возрасте 42–45 дней массой 12–13 г, приобретённых в питомнике Института биоорганической химии им. акад. Шемякина и Овчинникова РАН. Мышей содержали в клетках из поликарбоната Т-III («Techniplast», Италия), выстланных подстилочным материалом (Lignocel BK 8-15/LIGNOCEL), в группах по 5 особей. Клетки меняли раз в неделю, но не менее чем за 3 дня до поведенческого теста.

Мышей кормили *ad libitum* кормовым составом («Лабораторкорм», Россия), содержали в контролируемых условиях окружающей среды: температура воздуха — 21 ± 2 °C, относительная влажность — 50–60%, с искусственным освещением 12/12. Исследование одобрено биоэтической комиссией ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН. Мыши были разделены случайным образом на две группы: группа 1 (n=10) — здоровые интактные мыши; группа 2 (экспериментальная, n=10) состояла из мышей, подвергшихся ультразвуковому стрессу (начиная с 8-х сут.) непредсказуемо чередующимися частотами ультразвука в диапазоне от 20–25 до 25–45 кГц. Продолжительность эксперимента — 28 сут. Влияние стресса определяли при помощи поведенческих тестов: на 25-е сут. — тест «Открытое поле»; 26-е сут. — тест «Вынужденное плавание»; 27-е сут. — тест «О-лабиринт». Кишечную микробиоту определяли до эксперимента и на 28-е сут., на основании анализа последовательностей генов 16S рРНК по протоколу Illumina (16S Metagenomic Sequencing Library Preparation).

Результаты и их обсуждение

Сравнительный анализ поведенческих тестов (табл.) выявил некоторые отличия: так, у группы животных, подвергшихся стрессу, время, проведённое в центре арены в тесте «Открытое поле», увеличено на 57,1% ($p=0,024$) по сравнению с интактной группой. В тесте «Вынужденное плавание» отмечено, что время иммобилизации увеличено у экспериментальных животных на 67,68% ($p<0,001$). Результаты обоих тестов указывают на возможный эф-

Таблица. Результаты поведенческого тестирования, полученные на 25–27-й день эксперимента
Table. Summary of behavioral test results obtained on days 25–27 of the experiment

Параметр	Интакт	Стресс
«Открытое поле»		
Время в центре арены, с	15,0 [6,5–25,5]	35,0 [16,0–78,0]*
Время в периферийной зоне, с	345,0 [334,5–353,5]	325,0 [282,0–344,0]*
«Вынужденное плавание»		
Время иммобилизации, с	32,0 [17,0–37,0]	99,0 [89,0–111,0]*
«О-лабиринт»		
Число выходов в открытый участок	15,0 [13,0–23,0]	8,0 [4,0–17,0]
Время первого выхода, с	4,0 [3,0–15,0]	17,0 [6,0–53,0]

Примечание: данные представлены в виде среднего (Me) и межквартильного диапазона (P25–P75), * — $p < 0,05$.
Note: the results are presented as a median (Me) and interquartile range (P25–P75), * — $p < 0.05$.

фект аффективного уплощения [2]. Также отмечена повышенная тревожность в тесте «О-лабиринт» у мышей экспериментальной группы, о чём свидетельствуют полученные результаты: число выходов в открытый участок снижено на 46,67% ($p=0,163$), а время первого выхода увеличено в 4,25 раза ($p=0,059$).

Состав кишечной микробиоты интактных мышей в основном представлен следующими филумами: *Bacteroidetes* (61,5%), *Firmicutes* (34,9%), *Proteobacteria* (2,04%). Воздействие ультразвукового стресса привело к значительному изменению состава кишечной микрофлоры: на уровне филума изменения заключаются в повышении общего количества *Firmicutes* (увеличение на 52,4%), которое связано с увеличением бактерий семейства *Lachnospiraceae* — анаэробных спорообразующих бактерий, ферментирующих различные растительные полисахариды.

На уровне семейства кишечный микробиом интактных мышей в основном представлен *Lachnospiraceae*, *Porphyromonadaceae*, *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae*, *Ruminococcaceae* и *Rikenellaceae*. Согласно нашим данным, это более 95% всех идентифицированных семейств. Под воздействием стресса мы наблюдали следующие изменения: повышение *Lachnospiraceae* на 67,43%

и *Rikenellaceae* — на 39,29%. Также мы наблюдали снижение *Bacteroidaceae* на 64,75%, *Prevotellaceae* — на 38,51%.

Всего на уровне рода нами было идентифицировано 28 вариантов кишечной микробиоты. Среди них (в порядке убывания) — *Bacteroides*, *Alloprevotella*, *Prevotella*, *Alistipes*, *Paraprevotella*, *Ruminococcus*, *Saccharibacteria genera incertae sedis*, *Parasutterella*, *Odoribacter*, *Barnesiella* — занимают более 95%. Воздействие стресса вызвало существенное изменение родового состава кишечной микрофлоры мышей. Исчезли такие роды, как *Ruminococcus*, *Parabacteroides* и *Akkermansia*. Мы наблюдали снижение *Alloprevotella* на 59,16%. При этом свободную нишу заняли такие роды, как *Alistipes*, *Saccharibacteria genera incertae sedis*, *Rikenella* и *Odoribacter*.

Другим эффектом, который мы наблюдали в группе мышей, подвергнутых стрессу, было одновременное снижение бактерий рода *Bacteroides* и увеличение количества клостридий, а также резкое увеличение *Alistipes*. Похожие данные показали другие авторы в работах [5, 6]. Обнаруженный факт позволяет предполагать бактерии рода *Bacteroides*, *Alistipes* и клостридии некими маркерами стресса, но подтвер-

ждение данной гипотезы требует дополнительных исследований.

Нами было отмечено исчезновение таких родов, как *Ruminococcus*, *Lactobacillus*, *Dorea*, *Blautia* и *Rothia*. Данные роды не представляли большого количества от общей популяции микроорганизмов, но позволяют констатировать факт снижения микробного разнообразия в группе мышей, подвергнутых стрессу.

Стоит отметить, что наблюдаемые нами изменения в составе кишечного микроби-

ома мышей, подвергнутых стрессу, нашли противоречия в работах [1, 3, 4].

Выводы

Воздействие ультразвукового стресса на мышью линии C57BL/6 вызывает повышенную тревожность и апатию, также снижает разнообразие кишечного микробиома и приводит к его существенным сдвигам, при этом позволяя выделить некоторые рода бактерий, которые могут являться маркерами стресса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Bai S., Wang W, Wang T, et al. CD36 deficiency affects depressive-like behaviors possibly by modifying gut microbiota and the inflammasome pathway in mice. *Transl. Psychiatry*. 2021;11:16. DOI: 10.1038/s41398-020-01130-8.
2. Castagné V, Moser PC, Porsolt RD. Preclinical behavioral models for predicting antipsychotic activity. *Adv. Pharmacol.* 2009;57:381–418. DOI: 10.1016/S1054-3589(08)57010-4.
3. Chi H., Cao W, Zhang M, et al. Environmental noise stress disturbs commensal microbiota homeostasis and induces oxi-inflammation and AD-like neuropathology through epithelial barrier disruption in the EOAD mouse model. *J. Neuroinflammation*. 2021;18(1):9. DOI: 10.1186/s12974-020-02053-3.
4. Li N., Wang Q, Wang Y, et al. Fecal microbiota transplantation from chronic unpredictable mild stress mice donors affects anxiety-like and depression-like behavior in recipient mice via the gut microbiota-inflammation-brain axis. *Stress*. 2019;22(5):592–602. DOI: 10.1080/10253890.2019.1617267.
5. Li S., Wang Z, Yang Y, et al. Lachnospiraceae shift in the microbial community of mice faecal sample effects on water immersion restraint stress. *AMB Express*. 2017;7(1):82. DOI: 10.1186/s13568-017-0383-4
6. Qu Q., Li H, Bai L, et al. Effects of Heat Stress on Gut Microbiome in Rats. *Indian J. Microbiol.* 2021;61(3):338–347. DOI: 10.1007/s12088-021-00948-0.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Карabanов Сергей Юрьевич*, к.вет.н., ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН;
e-mail: s.karabanov@fncps.ru

Sergey Yu. Karabanov*, Cand. Sci. (Vet.), V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS;
e-mail: s.karabanov@fncps.ru

Кибиткина Анастасия Анатольевна, ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН;
e-mail: a.kibitkina@fncps.ru

Anastasiya A. Kibitkina, V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS;
e-mail: a.kibitkina@fncps.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



ПОЛУЧЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО РЕКОМБИНАНТНОГО МИОСТАТИНА ДЛЯ ИНДУЦИРОВАНИЯ СИНТЕЗА СПЕЦИФИЧЕСКИХ К МИОСТАТИНУ АУТОАНТИТЕЛ

Е.М. Колоскова*, В.А. Езерский, О.Б. Жукова

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

Белок миостатин, относящийся к семейству ростовых факторов, является потенциальной мишенью для терапевтического воздействия при патологиях мышечной системы и интересен не только этим. Полиморфизмы гена миостатина, связанные с ограничением функциональной активности белка, полезны как генетические маркеры мясной продуктивности сельскохозяйственных животных. Блокирование действия миостатина у продуктивных животных может достигаться за счёт индукции синтеза специфических аутоантител при использовании рекомбинантного миостатина, обладающего достаточной иммуногенностью в отношении миостатина как антигена. Была создана генетическая конструкция и получен штамм-продуцент *E. coli* с высоким уровнем экспрессии рекомбинантного миостатина.

Ключевые слова: рекомбинантный миостатин, *Escherichia coli*, аутоантитела, ПААГ-электрофорез
Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Колоскова Е.М., Езерский В.А., Жукова О.Б. Получение бактериального рекомбинантного миостатина для индуцирования синтеза специфических к миостатину аутоантител. *Биомедицина*. 2022;18(3):22–26. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-22-26>

Поступила 28.03.2022

Принята после доработки 04.04.2022

Опубликована 10.09.2022

PREPARATION OF BACTERIAL RECOMBINANT MYOSTATIN TO INDUCE THE SYNTHESIS OF MYOSTATIN-SPECIFIC AUTOANTIBODIES

Elena M. Koloskova*, Vadim A. Ezerskiy, Olga B. Zhukova

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

The myostatin protein, belonging to the family of growth factors, represents a potential target for therapeutic effects in muscular system pathologies. However, this protein is characterized by other beneficial properties. Polymorphisms of the myostatin gene associated with the restriction of its functional activity are useful as genetic markers of meat productivity in farm animals. Blocking the action of myostatin in productive animals can be achieved by inducing the synthesis of specific autoantibodies using recombinant myostatin, possessing sufficient immunogenicity against myostatin as an antigen. A genetic construct was created and an *E. coli* producer strain with a high level of expression of recombinant myostatin was obtained.

Keywords: recombinant myostatin, *Escherichia coli*, autoantibodies, PAAG electrophoresis

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

For citation: Koloskova E.M., Ezerskiy V.A., Zhukova O.B. Preparation of Bacterial Recombinant Myostatin to Induce the Synthesis of Myostatin-Specific Autoantibodies. *Journal Biomed.* 2022;18(3):22–26. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-22-26>

Submitted 28.03.2022

Revised 04.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Ген *MSTN* был идентифицирован в 1997 г. [4]. Нокаутные по этому гену мыши, полученные в том же году, отличались гипертрофированной мускулатурой. Продукт экспрессии гена *MSTN* – белок миостатин (фактор роста и дифференцировки 8, GDF-8) ограничивает чрезмерный рост мышечной массы и служит потенциальной мишенью для терапевтического воздействия при дегенеративных заболеваниях, травмах и других патологиях мышечной системы, особенно в спортивной медицине [1].

Миостатин вырабатывается в скелетных мышцах как белок-предшественник (препропептид, 375 аминокислот), который расщепляется на N-концевой пропептид и C-концевой зрелый белок (109 аминокислот), образующий функциональный димер с помощью дисульфидной связи. Миостатин является одним из отрицательных регуляторов роста скелетных мышц, которые, действуя посредством сигнального пути рецептора ActRIIB, ингибируют синтез белков в мышцах, дифференцировку и пролиферацию миоцитов [3]. При недостатке миостатина или блокировании его действия происходит не только увеличение мышечной массы, но и повышение силовых характеристик скелетных мышц.

Росто-весовые признаки многих позвоночных зачастую зависят от полиморфизма генов, отвечающих за эти признаки. Определены полиморфизмы гена миостатина, связанные как с нокаутом, так и с частичным нарушением функционирования гена, приводящие к отсутствию белка или огра-

ничению его функциональной активности. Так, например, у нескольких пород крупного рогатого скота с «двойной» мускулатурой, самая известная из которых — бельгийская голубая, обнаружено более девяти типов мутаций гена миостатина [2].

В настоящее время активно разрабатываются способы ингибирования активности миостатина на разных уровнях [5]:

- системное введение антител против миостатина;
- сверхэкспрессия или введение пропептида миостатина (пропептид является ингибитором функционально активного димера зрелого белка);
- системное введение рецептора ActRIIB;
- введение антител против ActRIIB;
- сверхэкспрессия или введение фоллистатина;
- опосредованная печенью сверхэкспрессия растворимого рецептора (sActRIIB), доминантно-негативного миостатина (dnMSTN) или пропептида;
- использование РНК-интерференции и антиолигонуклеотидов против миостатина или ActRIIB;
- редактирование гена миостатина с использованием системы AAV-Cas9;
- получение трансгенных животных-моделей с нокаутом гена миостатина.

Основной целью наших исследований являлось изучение возможности снизить действие эндогенного миостатина у овец для повышения мясной продуктивности иммунизацией животных рекомбинантным миостатином (pMSTN) с образованием ан-

тител к эндогенному белку. Для достижения цели на первом этапе была поставлена задача получить плазмиду для экспрессии рекомбинантного миостатина и штамм-продуцент *E. coli*, экспрессирующий белок.

Материалы и методы

Выбор аминокислотной последовательности

Последовательность зрелого белка миостатина овцы (109 аминокислот) была получена из базы данных GenBank (NCBI Reference Sequence: NP_001009428.1).

Оптимизация нуклеотидной последовательности, получение плазмиды

Оптимизированную для транскрипции в *E. coli* нуклеотидную последовательность синтетического гена зрелого белка миостатина и её клонирование в плазмиду pET28a(+) по сайтам BamHI и XhoI проводили в ЗАО «Евроген» (Россия).

Штаммы бактерий, трансформация, подбор условий роста

Компетентные клетки *E. coli* B121 (De3) получали по упрощённой нами стандартной методике химической трансформации с использованием 0,1 М CaCl₂. Свежеприготовленные компетентные клетки трансформировали плазмидой pET28-MSTN, высевали на чашки Петри с агаризованной средой Лурии – Бергани, содержащей 60 мкг/мл канамицина, инкубировали при 37 °С в течение ночи. Выросшие клоны с помощью ПЦР с использованием стандартных праймеров T7f/T7rev проверяли на наличие вставки размером 616 п.н. Один из положительных клонов использовали в качестве штамма-продуцента.

Из ночной культуры *E. coli* B121/pET28-MSTN (бульонная среда Лурии – Бергани с канамицином) 1 мл клеточной суспензии переносили в 100 мл среды Лурии – Бергани с антибиотиком и выращивали на шейкере-инкубаторе при 37 °С до достижения оптической плотности 0,12–0,63 о.е.

при длине волны 595 нм, после чего в клеточную суспензию вносили индуктор экспрессии рекомбинантного белка — изопропил-бета-галактопиранозид (ИПТГ) до 1 мМ. Культивировали от 7 ч при 37 °С до 20 ч при 22 °С на шейкере-инкубаторе. Перед внесением ИПТГ и в процессе культивирования отбирали по 1 мл клеточной суспензии для определения оптической плотности и содержания рМСТН.

Анализ отобранных проб на наличие в них рекомбинантного белка

Наличие целевого белка определяли с помощью 12,5% ПААГ-SDS электрофореза. Пробы клеточной культуры центрифугировали. К осадку, в зависимости от оптической плотности образца, добавляли двухбUFFERный образец и 0,1% SDS (1:1) в таком объёме, чтобы содержание суммарного белка в пробе было нормализовано для результирующей визуализации белковых полос в ПААГ. Пробы прогревали на кипящей водяной бане 1,5 мин, аликвоты по 20–30 мкл вносили в карманы геля. Для оценки молекулярной массы использовали белковые стандарты в диапазоне 10–250 кДа. После завершения электрофореза детекцию белка проводили окрашиванием Coomassie Blue R-250.

Результаты и их обсуждение

Для рекомбинантного белка была выбрана аминокислотная последовательность зрелого миостатина овцы. Запланированный рМСТН содержит 143 аминокислоты, кодирующие 6xHis фрагмент, тромбиновый сайт, T7 тэг, последовательность, соответствующую зрелому миостатину, и имеет рассчитанную молекулярную массу 15,92 кДа. Анализ последовательности кодонов для синтеза рМСТН в *E. coli* в программе Rare Codon Caltor (<http://people.mbi.ucla.edu/sumchan/caltor.html>) показал низкую частоту встречаемости для 12 кодонов из 109, что могло бы существенно снизить эффективность синтеза рекомбинантного белка при использовании оригинальной кодиру-

ющей последовательности, клонированной в плазмиду-вектор. Последовательность синтетического гена, кодирующего зрелый миостатин, была оптимизирована для эффективной экспрессии в *E. coli*.

Несмотря на значительное упрощение методики получения компетентных клеток, трансформация прошла успешно, и все проверенные клоны были трансфицированы.

При подборе условий роста штамма-продуцента с целью оптимизации наработки рекомбинантного белка учитывали следующие факторы: 1) доля рМСТН в суммарном бактериальном белке, 2) содержание рекомбинантного белка в общем объёме клеточной культуры. Методом ПААГ-электрофореза было показано, что *E. coli* B121/pET28-MSTN при индукции 1 мМ ИПТГ экспрессирует рекомбинантный белок массой около 16 кДа, что соответствует теоретическому значению. Ранняя индукция на стадии низкой оптической плотности (0,15 о.е.) приводила к получению рМСТН высокой чистоты (60–80% суммарного белка), но давала низкую суммарную наработку бактериальной биомассы, несмотря на длительное

культивирование. При индукции на более поздних стадиях (0,47–0,63) относительная доля рМСТН снижалась. Длительность культивирования при 37 °С до прекращения роста биомассы составляла 6–7 ч. Исходя из полученных результатов, оптимальный результат может быть получен при индукции экспрессии на уровне роста бактериальной массы, соответствующем 0,25–0,30 о.е. с более длительной инкубацией при температурах ниже 37 °С.

Закключение

При использовании в составе генетической конструкции оптимизированной нуклеотидной последовательности, кодирующей белок зрелого миостатина, был получен штамм-продуцент *E. coli* B121/pET28-MSTN, при индукции которого наблюдали высокий уровень экспрессии рекомбинантного белка. Рекомбинантный миостатин, полученный при культивировании в одном из использованных режимов, может быть применён в качестве антигена для иммунизации животных при минимальной обработке.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Кукес В.Г., Газданова А.А., Фуралев В.А., Маринин В.Ф., Перков А.В., Ленкова Н.И., Соловьёва С.А., Рязанцева О.В. Современное представление о биологической роли и клиническом значении миостатина — главного регулятора роста и дифференцировки мышц. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2021;16(3):327–332. [Kukes V.G., Gazdanova A.A., Furalayov V.A., Marinin V.F., Perkov A.V., Lenkova N.I., Solovieva S.A., Ryzantseva O.V. Modern representation of biological role and clinical significance of myostatin as the main regulator of muscle growth and differentiation]. *Medicinskij vestnik Severnogo Kavkaza [Medical News of North Caucasus]*. 2021;16(3):327–332. (In Russian)]. DOI: 10.14300/mnnc.2021.16079.
2. Bongiorni S., Valentini A., Chillemi G. Structural and dynamic characterization of the C313Y mutation in myostatin dimeric protein, responsible for the “double muscle” phenotype in Piedmontese cattle. *Front. Genet.* 2016;7:14. DOI: 10.3389/fgene.2016.00014.
3. Chen M.M., Zhao Y.P., Zhao Y., Deng S.L., Yu K. Regulation of myostatin on the growth and development of skeletal muscle. *Front. Cell Dev. Biol.* 2021;9:785712. DOI: 10.3389/fcell.2021.785712.
4. McPherron A.C., Lawler A.M., Lee S.J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature*. 1997;387(6628):83–90. DOI: 10.1038/387083a0.
5. Nielsen T.L., Vissing J., Krag T.O. Antimyoostatin treatment in health and disease: The story of great expectations and limited success. *Cells*. 2021;10(3):533. DOI: 10.3390/cells10030533.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

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

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

Vadim A. Ezerskiy, All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition — Branch of the Federal Scientific Center of Animal Husbandry — The All-Russian Institute of Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst;
e-mail: ez.vadim@yandex.ru

Жукова Ольга Борисовна, Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»;
e-mail: olgazhukova19801031@gmail.com

Olga B. Zhukova, All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition — Branch of the Federal Scientific Center of Animal Husbandry — The All-Russian Institute of Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst;
e-mail: olgazhukova19801031@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ АКТИВНОСТИ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ И КРОВИ КРЫС ПРИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ СУДОРОГ, ВЫЗВАННЫХ КАРБАМАТОМ

А.С. Мелехова*, Л.Г. Кубарская, А.Н. Петров, А.Я. Беспалов, А.Б. Верведа,
А.В. Бельская, М.В. Мельникова

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

Для моделирования судорожного синдрома внутривенно вводили фенокарбамат в дозе 1 мг/кг. В качестве потенциальных противосудорожных лекарственных средств были исследованы аминоэфир вальпроевой кислоты (43 мг/кг), карамифен (50 мг/кг), диферидин (2 мг/кг). Кровь и ткань головного мозга для определения ацетилхолинэстеразы (АХЭ) отбирали через 10, 30, 60 мин, 6 и 24 ч после введения ксенобиотика. На основании полученных данных можно сделать предварительное заключение о том, что при отравлении обратимыми ингибиторами АХЭ только начальные проявления судорожной активности обусловлены накоплением ацетилхолина в синапсах ЦНС (вследствие угнетения активности АХЭ), а за процессы дальнейшего поддержания и рецидивирования судорог ответственны другие механизмы, не связанные с ингибированием АХЭ.

Ключевые слова: карбаматы, фенокарбамат, острое отравление, судороги, диферидин, карамифен, аминоэфир вальпроевой кислоты

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Мелехова А.С., Кубарская Л.Г., Петров А.Н., Беспалов А.Я., Верведа А.Б., Бельская А.В., Мельникова М.В. Динамика изменений активности ацетилхолинэстеразы в головном мозге и крови крыс при фармакологической коррекции судорог, вызванных карбаматом. *Биомедицина*. 2022;18(3):27–31. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-27-31>

Поступила 29.03.2022

Принята после доработки 11.04.2022

Опубликована 10.09.2022

DYNAMICS OF CHANGES IN ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY IN THE BRAIN AND BLOOD OF RATS DURING PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF SEIZURES CAUSED BY CARBAMATE

Aleksandra S. Melekhova*, Larisa G. Kubarskaya, Aleksandr N. Petrov,
Aleksandr Ya. Bepalov, Aleksej B. Verveda, Alisa V. Belskaya, Margarita V. Melnikova

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

To simulate a convulsive syndrome, phenylcarbamate was administered intraperitoneally at a dose of 1 mg/kg. Valproic acid aminoester (43 mg/kg), caramiphene (50 mg/kg), and diferidine (2 mg/kg) were investigated as potential anticonvulsant drugs. Blood and brain tissue for the determination of acetylcholinesterase (AChE) were taken at 10, 30, 60 minutes, 6 and 24 hours after administration of the xenobiotic. In case

of poisoning with reversible inhibitors of AChE and accumulation of acetylcholine in the CNS synapses (due to inhibition of AChE activity), only the initial manifestations of convulsive activity are caused, and other mechanisms not associated with AChE inhibition are responsible for the processes of further maintenance and recurrence of seizures.

Keywords: carbamates, phenylcarbamate, acute poisoning, seizures, diphenhydramine, caramiphen, amino ester of valproic acid

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

For citation: Melekhova A.S., Kubarskaya L.G., Petrov A.N., Bespalov A.Ya., Verveda A.B., Belskaya A.V., Melnikova M.V. Dynamics of Changes in Acetylcholinesterase Activity in the Brain and Blood of Rats During Pharmacological Correction of Seizures Caused by Carbamate. *Journal Biomed.* 2022;18(3): 27–31. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-27-31>

Submitted 29.03.2022

Revised 11.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Будущее место среди интоксикаций химической этиологии занимают отравления нейротропными ядами. К числу приоритетных химических веществ судорожного действия, требующих оказания медицинской помощи пострадавшим в чрезвычайных ситуациях химической природы и при массовых бытовых отравлениях, следует отнести вещества антихолинэстеразного действия — фосфорорганические соединения (ФОС) и карбаматы [4]. Основными причинами развития судорожных состояний в результате прямого действия конвульсантов является дисбаланс между основными возбуждающими и угнетающими нейромедиаторными системами головного мозга.

Карбаматы — производные (сложные эфиры и соли) карбаминовой кислоты. По механизму действия карбаматы являются обратимыми ингибиторами АХЭ. В основе ингибирования АХЭ лежит карбамилрование её активного центра. Однако вследствие спонтанного декарбамиллирования фермента активность АХЭ восстанавливается, как правило, в пределах 4–6 ч [1].

Целью работы явилось изучение изменения активности АХЭ в крови и головном мозге крыс при тяжёлом отравлении фенолкарбаматом (ФК) и фармакологической коррекции.

Материалы и методы

В работе были использованы белые беспородные крысы-самцы в возрасте 3 мес. массой 200–220 г, источник получения — ФГУП «ПЛЖ «Рапполово» (Ленинградская обл.). Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с ГОСТ 33215-2014 от 01.07.2016 и ГОСТ 33216–2014 от 01.07.2016. Протокол исследования был одобрен биоэтической комиссией ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России.

Для моделирования судорожного синдрома в предварительных экспериментах определили дозу ФК (1 мг/кг) при внутрибрюшинном введении, вызывающую судорожный синдром у большинства крыс с минимальной гибелью животных. Средства фармакотерапии токсического судорожного синдрома вводили внутрибрюшинно, однократно, сразу при развитии судорог 4-го уровня по шкале Racine [5]. Шкала подразделяется на 6 уровней от снижения двигательной активности до полноценных тонических судорог.

В качестве средств для фармакологической терапии судорог использовали:

- карамифен, обладающий М-холиноблокирующими и NMDA-блокирующими эффектами, в дозе 50 мг/кг [3];
- диферидин — из группы ацетиленовых аминоспиртов, синтезирован в ФГБУ НКЦТ ФМБА России, в дозе 2 мг/кг;

• аминокэфир вальпроевой кислоты (АВК № 3), синтезирован в ФГБУ НКЦТ ФМБА России, в дозе 43 мг/кг.

После введения ФК, а также лечения у животных после декапитации производился забор крови и тканей головного мозга через определённые интервалы времени: 10, 30, 60 мин, 6 и 24 ч после введения ксенобиотика. На одну точку брали по 6 животных. Головной мозг промывали в физ. р-ре, высушивали и до проведения процедуры гомогенизации содержали при температуре 5–10 °С. Активность АХЭ определяли по методу Элмана [2].

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью Statistica 13.0 (StatSoft Inc., США). Данные представлены в виде медианы (Me), минимальных (Min) и максимальных (Max) значений — Me (Min; Max). Оценку различий двух независимых выборок проводили с использованием теста Манна–Уитни.

Результаты и их обсуждение

После введения ФК в дозе 1 мг/кг в/б судорожный синдром 4–6-го уровня по шкале Racine развивался у 90% крыс. При этом латентный период наступления судорог составил 7,8 (6,2; 9,5) мин, продолжитель-

ность судорог — 87,9 (61; 99) мин ($n=30$). При анализе степени выраженности судорог, вызванных ФК в дискретных временных промежутках после их появления, было установлено, что судороги 4-го уровня и выше у большинства крыс наблюдались на протяжении 50 мин.

В таблице приведены данные опытов по определению АХЭ в цельной крови и головном мозге контрольных и опытных групп и процентное соотношение (по отношению к контролю) ингибированной АХЭ после отравления фенилкарбаматом.

Представленные результаты свидетельствуют о том, что статистически значимое угнетение АХЭ в головном мозге белых крыс наблюдалось в течение 6 ч, а в цельной крови — до 60 мин после введения ФК в дозе 1 мг/кг. Через 24 ч происходило полное восстановление активности фермента и даже его увеличение. Важно отметить, что через 6 ч после введения ФК при сохраняющемся ингибировании АХЭ в ЦНС (на 43,4%) судороги у крыс уже полностью прекращались.

В результате изучения влияния фармакологических средств на степень выраженности судорог, вызванных ФК, установлено, что в наибольшей степени противосудорож-

Таблица. Динамика изменений активности ацетилхолинэстеразы в головном мозге и в крови белых крыс после введения ФК

Table. Dynamics of changes in acetylcholinesterase activity in the brain and blood of white rats after FC administration

Время	ФК (n=6)		Контроль (n=6)		% ингибирования, кровь	% ингибирования, мозг
	АХЭ, Е/мл крови	АХЭ, Е/мг мозга	АХЭ, Е/мл крови	АХЭ, Е/мг мозга		
10 мин	463,1 (365,4; 480,5)*	35,1 (32,7; 38,5)*	757,4 (606,4; 796,4)	78,0 (70,7; 80,4)	38,9 (36,6; 51,8)	54,9 (50,6; 58,1)
30 мин	370,9 (328,8; 396,2)*	66,3 (59,9; 79,7)*	563,7 (556,9; 634,9)	88,4 (87; 92,7)	34,2 (29,7; 41,7)	25,1 (9,9; 32,3)
60 мин	441,1 (292,1; 494,7)	63,4 (51,3; 70,6)*	690,1 (469,2; 700)	92,0 (90,6; 104,5)	36,1 (28,3; 57,7)	31,0 (23,2; 44,2)
6 ч	492,4 (418,8; 543,8)	68,1 (55; 86,2)	698,7 (686,8; 777,6)	120,3 (108; 144,6)	29,5 (22,2; 56,9)	43,4 (28,3; 54,3)
24 ч	946,3 (398,6; 996,6)	123,9 (111,8; 134,6)	763,6 (629,8; 798,3)	117,3 (109,9; 126,3)	-23,9 (-30,5; 47,8)	-5,6 (-14,7; 4,8)

Примечание: * — различия статистически значимы в сравнении с группой «Контроль» ($p<0,05$).

Note: * — differences are statistically significant in comparison with the “Control” group ($p<0,05$).

ный эффект проявился при лечении крыс карамифеном и аминоэфиром вальпроевой кислоты. Под влиянием карамифена интенсивность судорог резко снижалась сразу после его введения и через 10 мин достигала 0-го уровня, при этом ингибирование АХЭ в крови составляло 39,2%, в головном мозге — 54,7% по сравнению с интактной группой. При введении АВК № 3 наблюдалось исчезновение судорог 4-го уровня и выше через 20 мин, при этом ингибирование АХЭ в крови составляло 35,9%, в головном мозге — 32,9% по сравнению с контрольной группой. Под влиянием диферидина продолжительность судорог 4-го уровня и выше сокращалась до 30 мин, а ингибирование АХЭ в крови составляло 27,1%, в головном мозге — 28,8%.

Сопоставление степени угнетения активности АХЭ цельной крови и головного мозга крыс с выраженностью судорог, вызванных ФК, и при терапии судорожного синдрома изученными субстанциями выявило отсутствие прямой взаимосвязи между ингибированием АХЭ под влиянием фенилкарбамата и противосудорожной активностью изученных субстанций. Так,

при введении карамифена через 10 мин судороги прекращались, в то же время уровень ингибиции АХЭ оставался таким же, как и при введении одного судорожного агента. Подобная же картина наблюдалась и при использовании аминоэфира вальпроевой кислоты: на фоне ингибированной АХЭ в цельной крови и головном мозге судороги отсутствовали.

Выводы

На основании представленных данных можно сделать заключение о том, что при отравлении обратимыми ингибиторами АХЭ с накоплением ацетилхолина в синапсах ЦНС (вследствие угнетения активности АХЭ) обусловлены только начальные проявления судорожной активности, а за процессы дальнейшего поддержания и рецидивов судорог ответственны другие механизмы, не связанные с ингибцией АХЭ. К этим процессам могут быть отнесены формирование глутаматергической гиперактивности, приводящей к эксайтотоксичности, и угнетение активности ГАМК-ергической системы в результате нарушений межмедиаторного баланса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Рамш С.М., Петров А.Н. Подходы к рациональному конструированию обратимых ингибиторов ацетилхолинэстеразы в качестве средств для лечения болезни Альцгеймера. СПб.; 1999. [Ramsh S.M., Petrov A.N. Podkhody k ratsional'nomu konstruirovaniyu obratimyykh ingibitorov atsetilkholinesterazy v kachestve sredstv dlya lecheniya bolezni Al'tsgeymera [Approaches to the rational design of reversible acetylcholinesterase inhibitors as agents for the treatment of Alzheimer's disease]. St. Petersburg; 1999. (In Russian)].
2. Ellmann G.L., Courtney K.D., Andress V., Featherstone R.M. A new and rapid Colorimetric determination of activity acetylcholinesterase. *Biochem. Pharmacol.* 1961;7(2):88–95.
3. Figueiredo T.H., Aroniadou-Anderjaska V., Neuroprotective efficacy of caramiphen against soman and mechanisms of its action. *Br. J. of Pharmacology.* 2011;164:1495–1505.
4. Principles of Ecotoxicology. Ed. Walker C.H., et al. London, New York: Taylor& Francis Group., Boca Raton; 2006.
5. Racine R.J. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1972;32(3):281–294.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мелехова Александра Сергеевна*, ФГБУ
«Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: melehovaalexandra@gmail.com

Aleksandra S. Melekhova*, Golikov Research
Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical
and Biological Agency of Russia;
e-mail: melehovaalexandra@gmail.com

Кубарская Лариса Георгиевна, к.б.н., ФГБУ
«Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: larkub@yandex.ru

Larisa G. Kubarskaya, Cand. Sci. (Biol.), Golikov
Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: larkub@yandex.ru

Петров Александр Николаевич, д.м.н., проф.,
ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: alexnikpetrov@gmail.com

Aleksandr N. Petrov, Dr. Sci. (Med.), Prof.,
Golikov Research Clinical Center of Toxicology
of the Federal Medical and Biological Agency
of Russia;
e-mail: alexnikpetrov@gmail.com

Беспалов Александр Яковлевич, к.х.н., ФГБУ
«Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: albsp2011@yandex.ru

Aleksandr Ya. Bepalov, Cand. Sci. (Chem.),
Golikov Research Clinical Center of Toxicology
of the Federal Medical and Biological Agency
of Russia;
e-mail: albsp2011@yandex.ru

Верведа Алексей Борисович, к.м.н., ФГБУ
«Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: aleksivan02@mail.ru

Aleksej B. Verveda, Cand. Sci. (Med.), Golikov
Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: aleksivan02@mail.ru

Бельская Алиса Владимировна, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: belskayaalisa@gmail.com

Alisa V. Belskaya, Golikov Research Clinical
Center of Toxicology of the Federal Medical and
Biological Agency of Russia;
e-mail: belskayaalisa@gmail.com

Мельникова Маргарита Викторовна, ФГБУ
«Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: margarita10108@mail.ru

Margarita V. Melnikova, Golikov Research
Clinical Center of Toxicology of the Federal
Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: margarita10108@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-32-36>



РЕКОНВАЛЕСЦЕНТЫ COVID-19 ИМЕЮТ ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ К БЕЛКУ E ОБОЛОЧКИ ВИРУСА SARS-COV-2

Е.А. Орлова*, И.Г. Кондратов, О.Б. Огарков

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»
664003, Российская Федерация, Иркутск, ул. Тимирязева, 16

Получен продуцент рекомбинантного белка E оболочки вируса SARS-CoV-2 и разработана система его экспрессии и очистки в растворимой форме. Методом ИФА подтверждены его антигенные свойства. У реконвалесцентов COVID-19 статистически значимо повышен уровень иммуноглобулинов класса G к белку E в сравнении с контрольной группой пациентов.

Ключевые слова: COVID-19, рекомбинантный белок E, гуморальный иммунитет

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования: грант ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ «Молодёжный проект года».

Для цитирования: Орлова Е.А., Кондратов И.Г., Огарков О.Б. Реконвалесценты COVID-19 имеют гуморальный иммунитет к белку E оболочки вируса SARS-CoV-2. *Биомедицина*. 2022;18(3):32–36. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-32-36>

Поступила 11.04.2022

Принята после доработки 18.04.2022

Опубликована 10.09.2022

COVID-19 CONVALESCENTS EXHIBIT HUMORAL IMMUNITY TO SARS-COV-2 ENVELOPE (E) PROTEIN

Elizaveta A. Orlova*, Ilya G. Kondratov, Oleg B. Ogarkov

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems
664003, Russian Federation, Irkutsk, Timiryazeva Str., 16

In this work, we obtain a producer of the recombinant SARS-CoV-2 E protein and develop a system for its expression and purification in a soluble form. ELISA confirmed its antigenic properties. In COVID-19 convalescents, the level of IgG against the E protein was significantly increased in comparison with the control group of patients.

Keywords: COVID-19, recombinant protein E, humoral immunity

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

Funding: grant of the FSBSI SC FHHRP “Youth Project of the Year”.

For citation: Orlova E.A., Kondratov I.G., Ogarkov O.B. COVID-19 Convalescents Exhibit Humoral Immunity to SARS-COV-2 Envelope (E) Protein. *Journal Biomed*. 2022;18(3):32–36. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-32-36>

Submitted 11.04.2022

Revised 18.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Причины высокой вирулентности и иммуногенности SARS-CoV-2, обусловленные молекулярными особенностями вируса, не до конца понятны, несмотря на многочисленные исследования патогенеза COVID-19 и роли в нём гликопротеина S. В то же время за рамками глобальных исследований остаётся вирусный белок E, составляющий оболочку вириона, но выполняющий более важные функции внутри инфицированной клетки, показанные для других представителей семейства *Coronaviridae*, но не до конца изученные в патогенезе.

Особенностью белка E SARS-CoV-2 является структурная гомология его антигенных детерминант с эпитопами других патогенов и/или аутоантигенов. Высокое сходство трансмембранной области белка E SARS-CoV-2 с последовательностью LyrR-домена туберкулин-подобных белков микобактерий [4] может лежать в основе перекрёстного иммунитета против вируса SARS-CoV-2, вызванного туберкулёзной инфекцией [2], и объяснять наблюдаемое защитное действие вакцины БЦЖ [3]. Противоречивые результаты получены относительно оценки популяционного гуморального иммунитета к белку E [1, 5].

Данная работа направлена на создание продуцента рекомбинантного белка E оболочки вируса SARS-CoV-2, разработку методики его экспрессии и очистки в растворимой форме для дальнейших исследований его роли в патогенезе COVID-19, в т. ч. в формировании гуморального иммунитета.

Материалы и методы

Источником нуклеотидной последовательности гена E послужил штамм вируса SARS-CoV-2, полученный в ходе обследования населения Иркутской области на поражённость вирусом SARS-CoV-2. В работе использовали экспрессионные векторы pET15b, pET22b(+), pGAT2 и pTYB12; бак-

териальные штаммы *E. coli* XL1-blue и B834(DE3).

Выделение РНК вируса SARS-CoV-2 проводили набором TRIzol LS («Thermo Fisher», США). Реакцию обратной транскрипции проводили набором «РЕВЕРТА-L» («Интерлабсервис», Россия). Целевой фрагмент генома амплифицировали с праймерами со встроенными сайтами рестрикции. Кодировующую область гена E клонировали в экспрессионные векторы. Полученными плазмидами трансформировали клетки *E. coli* (XL1-blue), корректность ДНК-вставки оценивали секвенированием по Сэнгеру.

Рекомбинантную плазмиду субклонировали в экспрессионный штамм *E. coli* (B834(DE3)). Индукцию штамма-продуцента проводили в 100 мл LB с 0,1 мМ IPTG в течение 18 ч при 25 °С. Наличие рекомбинантного белка в растворимой фракции клеточного лизата анализировали при помощи электрофореза в 15% ПААГ с 0,1% SDS. Рекомбинантный растворимый белок, клонированный в вектор pTYB12, очищали с помощью аффинной хроматографии на Chitin Beads (IMPACT, NEB) по протоколу производителя. Элюированный белок подвергали двухэтапной ультрафильтрации через микроконцентраторы «Центрикон»: для очистки от примесей интеина с помощью «Центрикон-30» и для концентрирования белка E с помощью «Центрикон-10». Концентрацию белка определяли по стандартной методике Брэдфорд. Степень очистки полученного белка оценивали с помощью ПААГ-электрофореза, как описано выше.

ИФА для определения IgG к белку E проводили, сенсibiliзируя лунки планшета 200 нг рекомбинантного белка E на лунку в 0,1 М NaHCO₃ в течение ночи при 4 °С. Лунки блокировали 2% р-ром сухого молока и последовательно инкубировали с образцами плазмы крови человека, разбавленными в соотношении 1:10 PBS,

с конъюгатом антител против IgG человека, меченными пероксидазой хрена («Вектор-Бест», Россия), с р-ром тетраметилбензида («Вектор-Бест», Россия). Оптическую плотность измеряли при длине волны 405 нм. ИФА для количественного определения IgG к белку S SARS-CoV-2 проводили с помощью набора «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ» («Вектор-Бест», Россия) по протоколу производителя.

Обработку данных проводили с помощью программы Past. Значимость различий оценивали с помощью критерия Манна–Уитни с учётом нормальности выборок, определяемой по критерию Шапиро–Уилка, различия считали статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследований

Для сборки рекомбинантных конструкций, кодирующих белок E, изначально были выбраны 4 коммерческих вектора — pET15b, pET22b(+), pGAT2 и pTYB12, которые отличаются типом белковой метки, экспрессируемой в единой рамке считывания с целевым белком. Первые два вектора кодируют короткий 6×His-tag на N- и C-концах белка соответственно, pGAT2 — белок глутатион-S-трансферазу и сайт для разрезания тромбином для удаления метки, pTYB12 — интеин с аутосплайсинговой активностью и хитин-связывающим доменом. При анализе продуктов экспрессии не было выявлено индукции синтеза рекомбинантных белков в векторах pET15b и pET22b(+). Несмотря на индукцию целевых продуктов в векторе pGAT2, белок накапливался в нерастворимой форме (данные не представлены). Индукция рекомбинантного белка E в векторе pTYB12 приводила к синтезу гибридного белка интеин-EP в растворимой форме с предсказанной молекулярной массой прекурсора ~67 кДа (рис. 1, дорожка 1).

Рекомбинантный белок интеин-EP из клеточного супернатанта штамма-продукта очищали аффинной хроматогра-

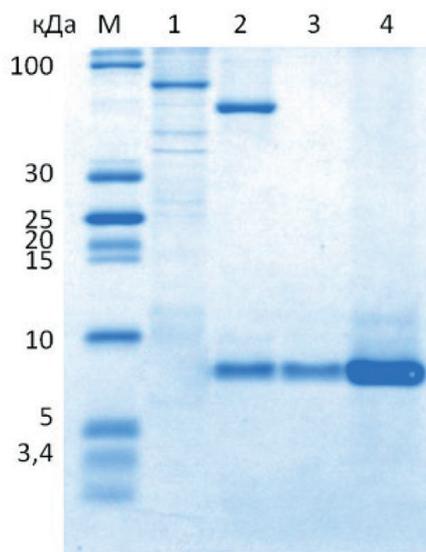


Рис. 1. Анализ белка E с помощью ПААГ-электрофореза.

Примечание: M — белковые маркеры. Дорожки: 1 — гибридный белок интеин-EP (MW 67 кДа); 2 — аутосплайсинг белка при добавлении DTT, ON +4 °C (MW интеина 58,4 кДа, EP 8,6 кДа); 3 — белок E, очищенный от примесей интеина с помощью «Центрикон-30»; 4 — белок E, сконцентрированный с помощью «Центрикон-10».

Fig. 1. Analysis of the E protein using PAAG electrophoresis.

Note: M — protein markers. Lanes: 1 — intein-EP fusion protein (MW 67 kDa); 2 — protein autosplicing with the addition of DTT, ON +4°C (intein MW 58.4 kDa, EP 8.6 kDa); 3 — E protein, purified from intein impurities using «Centricon-30»; 4 — E protein, concentrated using «Centricon-10».

фией, используя систему ИМПАКТ. В ходе протеинового аутосплайсинга гибридный белок, вероятно, менял свою конформацию и утрачивал аффинные свойства хитин-связывающего домена, поскольку мы наблюдали его элюцию с сорбента вместе с белком E (рис. 1, дорожка 2). Чтобы очистить целевой белок от загрязнения интеином, его подвергли двухэтапной ультрафильтрации через микроконцентраторы «Центрикон»: 1-й этап — очистка от примесей интеина с помощью «Центрикон-30» (рис. 1, дорожка 3); 2-й этап — концентрация белка E

с помощью «Центрикон-10» (рис. 1, дорожка 4). Выход целевого белка Е составил в среднем 200 мкг/л культуры.

Для измерения количества IgG в плазме крови человека проводили непрямой вариант качественного ИФА с использованием полученного рекомбинантного белка Е. Исследование проводили на двух группах: здоровые доноры, не имевшие COVID-19 в анамнезе и с отрицательными значениями IgG к белку S SARS-CoV-2 (19 пациентов), и реконвалесценты COVID-19 с положительными значениями IgG к белку S SARS-CoV-2 (67 пациентов). По результатам ИФА мы впервые наблюдали реактивность образцов плазмы крови пациентов к полученному рекомбинантному белку. При сравнении реактивности образцов плазмы крови, полученных от двух групп пациентов, мы обнаружили статистически достоверную разницу в уровне IgG, специфичных к белку Е SARS-CoV-2, у контрольной здоровой группы и реконвалесцентов COVID-19 ($p=0,03$) (рис. 2).

Выводы

Рекомбинантный белок Е вируса SARS-CoV-2, экспрессированный в системе интени-опосредованной индукции и очистки, структура которого верифицирована секвенированием рекомбинантной плазмиды, имеет антигенные свойства, подтвержден-

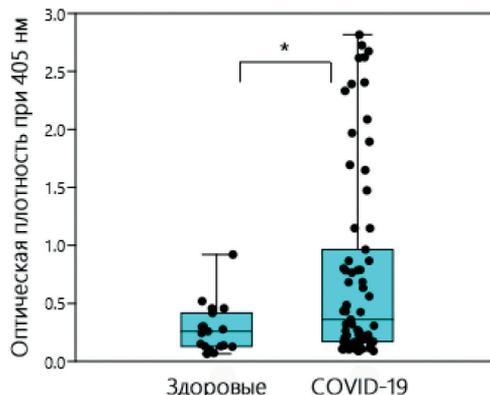


Рис. 2. Уровни IgG, реактивных к белку Е SARS-CoV-2, в плазме крови у здоровых доноров и реконвалесцентов COVID-19.

Примечание: * — разница между контрольной и COVID-19 группами статистически значима в непараметрическом тесте Манна – Уитни.

Fig. 2. Plasma levels of IgG reactive to SARS-CoV-2 E protein in healthy COVID-19 donors and convalescents. **Note:** * — difference between the control and COVID-19 groups is statistically significant in the non-parametric Mann – Whitney test.

ные ИФА. Разработанная методика получения растворимого рекомбинантного белка Е позволяет использовать его для дальнейшего изучения потенциальной биологической активности. Анализ популяционного иммунитета (IgG) к белку Е SARS-CoV-2 позволил выявить достоверные различия между группами здоровых и переболевших COVID-19 пациентов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Chang S.E., Feng A., Menget W., Apostolidis S.A., Mack E., Artandi M., Barman L., Bennett K., Chakraborty S., Chang I., Cheung P., Chinthrajah S., Dhingra S., Do E., Finck A., Gaano A., Gefner R., Giannini H.M., Gonzalez J., Greib S., Gündisch M., Hsu A.R., Kuo A., Manohar M., Mao R., Neeli I., Neubauer A., Oniyide O., Powell A.E., Puri R., Renz H., Shapiro J., Weidenbacher P.A., Wittman R., Ahuja N., Chung H.R., Jagannathan P., James J.A., Kim P.S., Meyer N.J., Nadeau K.C., Radic M., Robinson W.H., Singh U., Wang T.T., Wherry E.J., Skevaki C., Luning Prak E.T., Utz P.J. New-onset IgG autoantibodies in hospitalized patients with COVID-19. *Nat. Commun.* 2021;12(1):e5417. DOI: 10.1038/s41467-021-25509-3.
- Madan M., Pahuja S., Mohanet A., Pandey R.M., Madan K., Hadda V., Tiwari P., Guleria R., Mittal S. TB infection and BCG vaccination: Are we protected from COVID-19? *Public Health.* 2020;185:91–92. DOI: 10.1016/j.puhe.2020.05.042.
- Netea M.G., Giamarellos-Bourboulis E.J., Dominguez-Andrés J., Curtis N., van Crevel R., van de Veerdonk F.L., Bonten M. Trained immunity: A tool for reducing susceptibility to and the severity of SARS-CoV-2 infection. *Cell.* 2020;181(5):969–977. DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.042.

4. Nuovo G., Tili E., Suster D., Matys E., Hupp L., Magro C. Strong homology between SARS-CoV-2 envelope protein and a Mycobacterium sp. antigen allows rapid diagnosis of Mycobacterial infections and may provide specific anti-SARS-CoV-2 immunity via the BCG vaccine. *Ann. Diagn. Pathol.* 2020;48:151600. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2020.151600.
5. Szymczak A., Jędruchiewicz N., Torelli A., Kaczmarzyk-Radka A., Coluccio R., Kłak M., Konieczny A., Ferenc S., Witkiewicz W., Montomoli E., Miernikiewicz P., Bąchor R., Dąbrowska K. Antibodies specific to SARS-CoV-2 proteins N, S and E in COVID-19 patients in the normal population and in historical samples. *J. Gen. Virol.* 2021;102(11):001692. DOI: 10.1099/JGV.0.001692.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Орлова Елизавета Андреевна*, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»;
e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com

Elizaveta A. Orlova*, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems;
e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com

Кондратов Илья Геннадьевич, к.б.н., ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»;
e-mail: kondratovig@mail.ru

Ilya G. Kondratov, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems;
e-mail: kondratovig@mail.ru

Огарков Олег Борисович, д.м.н., ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»;
e-mail: obogarkov@mail.ru

Oleg B. Ogarkov, Dr. Sci. (Med.), Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems;
e-mail: obogarkov@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



НОВЫЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ ПОДХОД ДЛЯ ОЦЕНКИ ТКАНЕВЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ ТИПА 2 У МЫШЕЙ С ПОМОЩЬЮ ПРИБОРА «ЛАЗМА СТ»

О.И. Степанова*, Р.А. Клёсов, Х.Х. Семёнов, И.А. Помыткин, В.Н. Каркищенко

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

Аппарат лазерной диагностики «ЛАЗМА СТ» был изучен и впервые адаптирован для доклинических исследований на лабораторных грызунах (мыши db/db с генетической моделью сахарного диабета 2-го типа). Новый метод исследования тканевых изменений при сахарном диабете заключается в одновременном контроле компартментов микроциркуляции: кровотока и лимфотока и окислительных коферментов. Преимуществом такого подхода является не только высокая информативность, но и безопасность, возможность динамического наблюдения, объективность и получение данных в реальном времени о тканевом метаболизме (восстановленном никотинамидадениндинуклеотиде (НАДН) и окисленном флавинадениндинуклеотиде (ФАД)).

Ключевые слова: НАДН, ФАД, мыши db/db, аппарат лазерной диагностики «ЛАЗМА СТ», сахарный диабет 2-го типа

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Степанова О.И., Клёсов Р.А., Семёнов Х.Х., Помыткин И.А., Каркищенко В.Н. Новый диагностический подход для оценки тканевых изменений при сахарном диабете типа 2 у мышей с помощью прибора «ЛАЗМА СТ». *Биомедицина*. 2022;18(3):37–44. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-37-44>

Поступила 01.04.2022

Принята после доработки 11.04.2022

Опубликована 10.09.2022

A NEW DIAGNOSTIC APPROACH TO ASSESSING TISSUE CHANGES IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS IN MICE USING “LASMA ST” DEVICE

Olga I. Stepanova*, Roman A. Klesov, Khyzyr Kh. Semenov, Igor A. Pomytkin,
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

For the first time, LASMA ST, a device for laser diagnostic, was adapted for preclinical studies on laboratory db/db mouse genetic models of type 2 diabetes. The proposed method for studying of tissue changes during diabetes mellitus consists in a simultaneous control of microcirculation compartments: blood and lymph flow and oxidative coenzymes. The presented approach is characterized by a high informational value, safety and objectivity, as well as by the possibility of dynamic monitoring and obtaining online data on tissue metabolism (reduced nicotinamide adenine dinucleotide – NADH and oxidized flavin adenine dinucleotide – FAD).

Keywords: NADH, FAD, db/db mice, laser diagnostic device LASMA ST, type 2 diabetes

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

For citation: Stepanova O.I., Klesov R.A., Semenov Kh.Kh., Pomytkin I.A., Karkischenko V.N. A New Diagnostic Approach to Assessing Tissue Changes in Type 2 Diabetes Mellitus in Mice Using “LASMA ST” Device. *Journal Biomed.* 2022;18(3):37–44. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-37-44>

Submitted 01.04.2022

Revised 11.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Сахарный диабет (СД) — тяжёлое хроническое заболевание, характеризующееся нарушением всех видов обмена веществ и, в первую очередь, углеводного [5, 7, 9]. Инсулинорезистентность признана одной из главных причин развития эндотелиальной дисфункции, приводящей к развитию сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений [3, 5, 11]. Микрососудистые нарушения у пациентов с СД ассоциированы с более высокой заболеваемостью и смертностью [16]. В результате метаанализа [10] исследователи показали очевидную взаимосвязь между СД и дисфункцией кожной микроциркуляции [13]. Относительно недавно для оценки состояния микроциркуляторного русла были предложены методы высокочастотной ультразвуковой доплерографии (ВЧУД) и лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) [2, 6].

Метод ЛДФ в настоящее время активно используется в диагностике диабетической микроангиопатии [8, 9, 12]. С помощью этого метода исследуются колебательные процессы сосудистой стенки в микроциркуляторном русле. Принцип метода базируется на спектральном анализе ЛДФ-грамм и выявлении характерных осцилляций в определённых диапазонах частот. Метод ЛДФ позволяет неинвазивно измерять перфузию в коже и слизистых, показатель перфузии регистрируется прибором в режиме «реального времени», что важно для динамического мониторинга.

Аппарат лазерный диагностический «ЛАЗМА СТ» позволяет определять тяжесть заболевания: субкомпенсированные

нарушения; декомпенсированные нарушения; признаки диабетической стопы и оценивать эффективность лекарственной терапии при индивидуальном подборе фармпрепаратов. Область диагностики у людей — лицо, конечности, палец стопы, наиболее чувствительная область к диабетическим осложнениям.

В ходе одной диагностической процедуры одновременно контролируются активность окислительных коферментов способом флуоресцентной диагностики и состояние микроциркуляции кровотока и лимфотока методом лазерной доплеровской флоуметрии, а эффективность лекарственной терапии оценивается путём сравнения с контрольными значениями диагностических показателей. Отсутствие литературных данных по использованию аппарата лазерной диагностики «ЛАЗМА СТ» в доклинических исследованиях на лабораторных животных с моделью СД позволило нам сформулировать цели и задачи настоящего исследования.

Целью настоящего исследования явилось изучение целесообразности использования аппарата лазерной диагностики «ЛАЗМА СТ» на мутантных мышах линии C57BL/KsJYLepr^{db/+} (db/db) в качестве нового диагностического подхода для оценки тканевых изменений при сахарном диабете 2-го типа.

Для достижения указанной цели нами были поставлены следующие задачи: изучить аппарат лазерный диагностический «ЛАЗМА СТ» и адаптировать его для доклинических исследований на лабораторных

грызунах; оценить эффективность и безопасность аппарата лазерной диагностики «ЛАЗМА СТ» на лабораторных мышах с СД 2-го типа.

Материалы и методы

Лазерный диагностический аппарат «ЛАЗМА СТ» включает анализаторы периферического кровотока, лимфотока и коферментов ткани ЛАЗМА-Д [2, 4].

Если области диагностики у людей — лицо, конечности, пальцы стопы, то у лабораторных животных (мелких грызунов) наиболее доступная область диагностики — это хвост, который хорошо снабжён восьмью хвостовыми венами и капиллярами и участвует в теплообмене животного.

Нами была проведена диагностика окислительного метаболизма и микроциркуляции кровотока и лимфотока в ткани хвоста у мышей линии db/db с генетической моделью СД 2-го типа. На аппарате «ЛАЗМА СТ» изучали патофизиологические изменения в организме при СД 2-го типа на мутантных мышцах C57BL/KsJYLepr^{db/+}(B/Ks-Lepr^{db/+}), которые несут рецессивный ген *leptin receptor-Lepr^{db}* – (db) (8-я группа сцепления, 4-я хромосома). Ген *db* в гомозиготном состоянии вызывает диабет, сходный с *diabetes mellitus*, с дегрануляцией β-клеток в островках поджелудочной железы (ПЖ), но без дефицита инсулина. Мыши-диабетики B/Ks-Lepr^{db}/Lepr^{db} (db/db) обоих полов бесплодны.

Для контроля динамики развития СД 2-го типа использовали группу здоровых мышей: фенотипически здоровые гетерозиготные мыши той же линии B/Ks-Lepr^{db/+} (db/+m).

Результаты и их обсуждение

Новый метод исследования тканевых изменений при СД заключается в одновременном контроле компарментов микроциркуляции: кровотока и лимфотока и окислительных коферментов.

Метаболические процессы клеточных структур ткани энергозависимы. Изменение энергетического обмена лежит в основе большинства функциональных и энергетических нарушений в тканях. Все энергетические нарушения реализуются на молекулярном уровне [1]. Развитие СД связано с энергетическим дисбалансом, с нарушением тканевого адекватного энергообразования в результате дефицита аэробного окисления глюкозы. Диагностика основана на одновременной оценке активности тканевых коферментов: восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) и окисленного флавинадениндинуклеотида (ФАД) способом флуоресцентной спектроскопии [14, 15] и показателей микроциркуляции кровотока и лимфотока методом лазерной доплеровской флуометрии. Аппарат (рис. 1А) в реальном времени определяет состояние микроциркуляции (периферического кровотока, лимфотока) и обменных процессов коферментов ткани: НАДН — восстановленный никотинамидадениндинуклеотид, а ФАД — окисленный флавинадениндинуклеотид). Коферменты -НАДН и -ФАД — биомаркеры состояния окислительного метаболизма в ткани. В аппарате применяются источники двух длин волн: УФ — 365 нм (для НАДН — в диапазоне 460 нм) и Син — 450 нм (для ФАД — в диапазоне 515 нм).

Показатели кровотока и лимфотока определяются косвенным образом по оптическим характеристикам области зондирования в относительных единицах как функции времени, а нормативные амплитуды флуоресценции в ткани — в безмерных единицах.

В ходе работы нами была адаптирована неинвазивная платформа для животных, ограничивающая их движения (в состоянии покоя) (рис. 1Б) для снятий показаний микроциркуляции (периферического кровотока, лимфотока) и обменных процессов коферментов в ткани. Платформа подо-

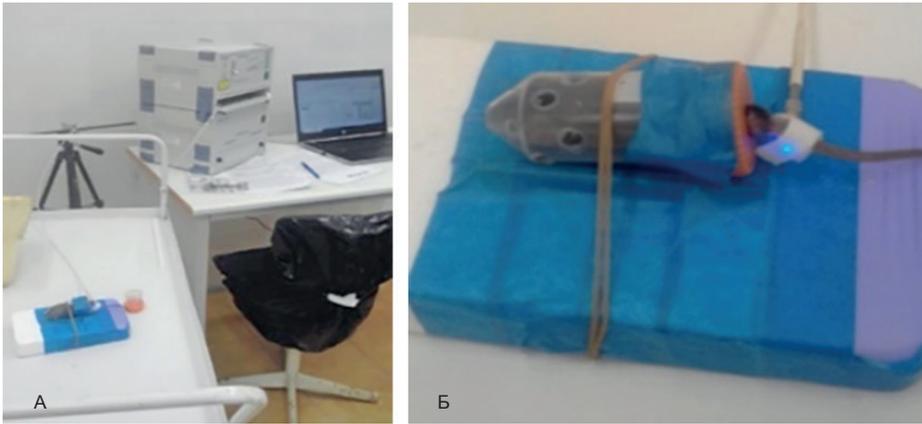


Рис. 1. Определение состояния микроциркуляции кровотока, лимфотока и окислительных коферментов -НАДН и -ФАД с помощью лазерной доплеровской флоуметрии: А — аппарат «ЛАЗМА СТ» в работе; Б — камера для мышей в состоянии покоя (масса тела 25–35 г).

Fig. 1. Determination of the microcirculation of blood flow, lymph flow and oxidative coenzymes -NADH and -FAD using laser Doppler flowmetry: А – LASMA ST in operation; Б – chamber for mice at rest (body weight 25–35 g).

брана по массе тела мышей db/db 20–70 г, для этого использовали съёмные камеры и фиксатор для зонда на хвосте мышей db/db на уровне сердца. В работе с мышами db/db с моделью СД 2-го типа были рассмотрены и адаптированы в наших условиях показатели: нормированная амплитуда флуоресценции кофермента НАДН (АНАДН), нормированная амплитуда флуоресценции кофермента ФАД (АФАД), комплексный диагностический показатель окислительного метаболизма (ПОМ) и параметр обследования функционального состояния микроциркуляторно-тканевой системы, объединяющий микроциркуляцию кровотока и окислительный метаболизм (ФС МТС).

С помощью прибора «ЛАЗМА СТ» (рис. 2) выявлены различия у мышей db/db по параметру ФС МТС: а) с декомпенсацией (n=10); б) с повышенной активностью (n=14), из них с субкомпенсацией (n=8), с компенсацией (n=6); в) норма (фенотипически здоровые гетерозиготы) db/+m (n=6). Из рис. 2 видно, что в группе с декомпенсацией амплитуды были высокими: -НАДН=4,37±1,85; -ФАД=1,45±0,36. Их показатель окислительного метаболизма

(ПОМ) был низким и составлял 1,78±0,52, разница достоверна по сравнению с нормой и другими группами исследования.

Новый диагностический подход для оценки тканевых изменений при СД 2-го типа у мышей db/db исследовался нами в динамике в течение 220 дней, начиная с возраста 1–1,5 мес. до 6,5 мес. Использовались мыши db/db (n=40) и db/+m (n=16). На рис. 3 отражено, что в возрасте 1,5 мес. организм мыши db/db активно адаптируется (компенсируется) к нарастающей гликемии — 10,3±2,4 ммоль/л (норма db/+m — 5,4±0,5 ммоль/л). Одновременно мы оценивали активности тканевых коферментов на аппарате «ЛАЗМА СТ»: амплитуды восстановленного НАДН — 0,77±0,21 (норма — 0,54±0,15), окисленного ФАД — 1,27±0,45 (норма — 0,77±0,13) и ПОМ — 9,42±3,15 (норма — 13,95±7,98). Аппаратом «ЛАЗМА СТ» формирование первых пиков липофусцина было отмечено в возрасте 1,5 мес. у 25–30% животных, однако состояние декомпенсации не было выявлено.

Формирование в организме животных первых декомпенсаций наблюдается в возрасте 2–2,5 мес. у 12–14% особей, в период



Рис. 2. Определение прибором «ЛАЗМА СТ» состояния коферментов НАДН, ФАД и ПОМ в разных группах мышей db/db.

Fig. 2. Determination of the state of NADH and FAD coenzymes and the index of oxidized metabolism in different groups of db/db mice using LASMA ST.

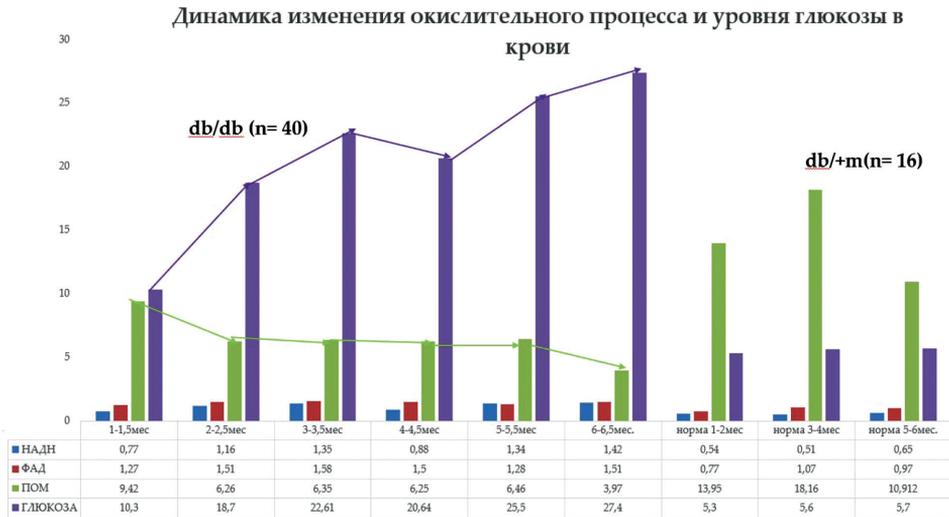


Рис. 3. Динамика изменения гликемии, окислительного процесса и активности трофики микроциркуляции мышей с СД (db/db) и без (db/+m, норма) в разном возрасте.

Fig. 3. Dynamics of changes in glycaemia, oxidative process, and microcirculation trophic activity in mice with diabetes (db/db) and without diabetes (db/+m, normal) at different ages.

активного набора веса и роста уровня гликемии ($18,7 \pm 3,83$ ммоль/л) появляются выраженные клинические признаки полиурии, а микроциркуляция (активность трофики) медленно снижается, амплитуды коферментов повышаются ($-НАДН=1,16 \pm 0,47$;

$-ФАД=1,51 \pm 0,44$), понижается уровень ПОМ ($6,26 \pm 2,36$) и наблюдается снижение окислительного процесса и развитие гипоксий в организме.

С увеличением возраста у животных повышаются: инсулинорезистентность (глю-

козотоксичность), полиурия, полифагия, что ведёт к снижению адаптивных процессов, а также к снижению резистентности организма и усилению тяжести патофизиологических признаков болезни. С помощью аппарата «ЛАЗМА СТ» была проведена диагностика метаболизма и микроциркуляции кровотока и лимфотока в хвостовой ткани мыши. В ходе одной диагностической процедуры одновременно контролировались активность окислительных кофферментов способом флуоресцентной диагностики и состояние микроциркуляции кровотока и лимфотока методом лазерной доплеровской флоуметрии, в сочетании с анализом биохимических показателей (уровень глюкозы в крови) и клиническими признаками (полиурии и полифагии), т. е. проводилась полная комплексная диагностика состояния животных. Прибор «ЛАЗМА СТ» можно использовать как новый диагностический подход для оценки тканевых изменений при сахарном диабете 2-го типа у мышей db/db.

Выводы

Аппарат лазерной диагностики «ЛАЗМА СТ» был изучен и адаптирован для доклинических исследований на лабораторных грызунах (мыши db/db с генетической моделью СД 2-го типа):

- созданы съёмные камеры для животных разной массы тела с целью достижения состояния покоя;

- для зонда прибора подобран фиксатор хвоста мыши на уровне сердца;
- адаптированы показатели: АНАДН — нормированные амплитуды флуоресценции коффермента НАДН; АФАД — нормированные амплитуды флуоресценции коффермента ФАД; ПОМ — комплексный диагностический показатель окислительного метаболизма, характеризующий состояние связанных между собой компарментов микроциркуляторно-тканевой системы кожи, микроциркуляции крови и биомаркеров окислительного метаболизма — кофферментов НАДН и ФАД и параметр ФС МТС, объединяющий микроциркуляцию кровотока и окислительный метаболизм.

Результаты, полученные в ходе диагностики на приборе «ЛАЗМА СТ», подтверждаются результатами биохимических анализов крови и клиническими признаками.

Аппарат лазерный диагностический «ЛАЗМА СТ» — это новый информативный метод оценки нарушения функции микроциркуляторно-тканевой системы, включая микроциркуляцию кровотока и окислительный метаболизм. Преимуществом такого подхода является не только высокая информативность, но и безопасность, возможность динамического наблюдения, объективность и получение данных в реальном времени о тканевом метаболизме (восстановленном никотинамидадениндинуклеотиде — НАДН и окисленном флавинадениндинуклеотиде — ФАД).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. *Биологическая химия*: учеб., 3-е изд., стереотипное. М.: Медицина, 2008. [Berezov T.T., Korovkin B.F. *Biologicheskaya khimiya* [Biological chemistry]. Moscow: Medicina Publ., 2008. (In Russian)].
2. *Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови: рук-во для врачей*. Под ред. А.И. Крупаткина, В.В. Сидорова. М.: Медицина, 2005. [Lazernaya dopplerovskaya floumetriya mikrot-sirkulyatsii krovi: ruk-vo dlya vrachey [Laser Doppler flowmetry of blood microcirculation: a guide for doctors]. Ed. by A.I. Krupatkin, V.V. Sidorov. Moscow: Medicina Publ., 2005. (In Russian)].
3. Мкртумян А.М., Егшатын Л.В. Субетта — новый активатор рецептора инсулина. *Эффективная фармакотерапия*. 2019;15(12):12–17. [Mkratumyan A.M., Egshatyan L.V. Subetta — novyy aktivator retseptora insulina [Subetta is a novel insulin receptor activator]. *Effective pharmacotherapy*. 2019;15(12):12–17. (In Russian)].
4. *Оптическая биомедицинская диагностика*. Пер. с англ. под ред. В.В. Тучина. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2007;2:158. [Opticheskaya biomeditsinskaya diag-

- nostika [Optical biomedical diagnostics]*. Moscow: FIZMATLIT Publ., 2007;2:158. (In Russian)].
- Осложнения сахарного диабета: лечение и профилактика. Под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. М.: МИА, 2017. [*Oslozheniya sakharного diabeta: lechenie i profilaktika [Complications of diabetes mellitus: treatment and prevention]*]. Ed. by I.I. Dedov, M.V. Shestakova. Moscow: MIA Publ, 2017. (In Russian)].
 - Петрищев Н.Н., Васина Е.Ю. *Медицинская технология. Способ определения реактивности сосудов микроциркуляторного русла и вазомоторной функции эндотелия с использованием высокочастотной доплерографии*. СПб., 2009. [Petrishchev N.N., Vasina E.Yu. *Meditsinskaya tekhnologiya. Sposob opredeleniya reaktivnosti сосудов mikrotsirkulyatorного русла i vazomotorной funktsii endoteliya s ispol'zovaniem vysokochastotной doplerografii [Medical technology. A method for determining the reactivity of the vessels of the microvasculature and the vasomotor function of the endothelium using high-frequency dopplerography]*. St. Petersburg, 2009. (In Russian)].
 - Стаценко М.Е., Деревянченко М.В., Титаренко М.Н., Пастухова О.Р. Нарушения микроциркуляции кожи у больных с артериальной гипертензией и сахарным диабетом 2-го типа в зависимости от стадии хронической болезни почек. *Нефрология*. 2015;19(5): 57–63. [Statsenko M.E., Derevyanchenko M.V., Titarenko M.N., Pastukhova O.R. Narusheniya mikrotsirkulyatsii kozhi u bol'nykh s arterial'noy gipertenziei i sakharным диабетом 2-go tipa v zavisimosti от stadii khronicheskoy bolezni pochek [Skin microcirculation disorders in patients with arterial hypertension and type 2 diabetes depending on the stage of chronic kidney disease]. *Nephrology*. 2015;19(5): 57–63. (In Russian)].
 - Bruno R.M., Reesink K.D., Ghiadoni L. Advances in the non-invasive assessment of vascular dysfunction in metabolic syndrome and diabetes: Focus on endothelium, carotid mechanics and renal vessels. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2017;27(2):121–128. DOI: 10.1016/j.numecd.2016.09.004.
 - Clark M.G. Impaired microvascular perfusion: A consequence of vascular dysfunction and a potential cause of insulin resistance in muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2008;295(4): 732–750. DOI: 10.1152/ajpendo.90477.2008.
 - Fuchs D., Dupon P.P., Schaap L.A., Draijer R. The association between diabetes and dermal microvascular dysfunction noninvasively assessed by laser Doppler with local thermal hyperemia: A systematic review with meta-analysis. *Cardiovascular Diabetology*. 2017;16(1):11. DOI: 10.1186/s12933-016-0487-1.
 - Greenman R.L., Panasyuk S., Wang X., Lyons T.E., Dinh T., Longoria L., Giurini J.M., Freeman J., Khaodhiar L., Veves A. Early changes in the skin microcirculation and muscle metabolism of the diabetic foot. *Lancet*. 2005;366(9498):1711–1717.
 - Hsui H., Hu H.F., Tsai H.C. Differences in laser-Doppler indices between skin-surface measurement sites in subjects with diabetes. *Microvasc. Res.* 2018;115: 1–7. DOI: 10.1016/j.mvr.2017.07.004.
 - Jörneskog G., Kalani M., Kuhl J., Båvenholm P., Katz A., Allerstrand G., Alvarsson M., Efendic S., Ostenson C.G., Pernow J., Wahren J., Brismar K. Early microvascular dysfunction in healthy normal-weight males with heredity for type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28(6):1495–1497.
 - Mayevsky A., Rogatsky G.G. Mitochondrial function *in vivo* evaluated by NADH fluorescence: From animal models to human studies. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2007;292(2):C615–C640. DOI: 10.1152/ajpcell.00249.2006.
 - Mokrý M., Gál P., Harakalová M., Hutnanová Z., Kusnir J., Mozes S., Sabo J. Experimental study on predicting skin flap necrosis by fluorescence in the FAD and NADH bands during surgery. *Photochem. Photobiol.* 2007;83(5):1193–1196. DOI: 10.1111/j.1751-1097.2007.00132.x.
 - Roglic G., Unwin N., Bennett P.H., Mathers C., Tuomilehto J., Nag S., Connolly V., King H. The burden of mortality attributable to diabetes: Realistic estimates for the year 2000. *Diabetes Care*. 2005;28(9):2130–2135. DOI: 10.2337/diacare.28.9.2130.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Степанова Ольга Ивановна*, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: olgsima50@mail.ru

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

Roman A. Klesov, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: klesrom@mail.ru

Семёнов Хызыр Хыйсаевич, к.б.н., ФГБУН
«Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»

Khyzyr Kh. Semenov, Cand. Sci. (Biol.), Scientific
Center of Biomedical Technologies of the Federal
Medical and Biological Agency of Russia

Помыткин Игорь Анатольевич, к.х.н., ФГБУН
«Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»;

e-mail: ipomytkin@mail.ru

Igor A. Pomytkin, Cand. Sci. (Chem.), Scientific
Center of Biomedical Technologies of the Federal
Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: ipomytkin@mail.ru

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

e-mail: scbmt@yandex.ru

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

e-mail: scbmt@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЦНС, ПЕРИСТАЛЬТИКИ КИШЕЧНИКА И МИКРОБИОЦЕНОЗА ПРИ ОТРАВЛЕНИИ БАРБИТУРАТАМИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Н.С. Тропская^{1,2,*}, Е.А. Кислякова¹, И.Г. Вилкова¹, Ю.В. Гурман¹,
О.С. Кислицына¹, А.В. Жеребцов¹, Е.Н. Бородина¹, Т.В. Черненькая¹, Т.С. Попова¹

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

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

После однократного введения высоких доз тиопентала натрия (85 мг/кг внутривенно) у животных в течение суток наблюдали отсутствие или ослабление рефлексов на уровнях спинного мозга, продолговатого мозга, моста и среднего мозга и коры больших полушарий. Отмечалась выраженная гипотермия, снижение частоты дыхания и нарушение его ритма, развивалась отчетливая тенденция к брадикардии. В 1–3-е сут. после введения тиопентала натрия наблюдалось восстановление частоты дыхания, частоты сердечных сокращений, температуры тела, функционального состояния центральной нервной системы (ЦНС) на различных уровнях за исключением коры больших полушарий. В отдаленные сроки после введения тиопентала натрия до 21 сут. выявляли угнетение функционального состояния ЦНС на уровне коры больших полушарий головного мозга, нарушение координированной пропульсивной перистальтики тонкой кишки и микробиоценоза кишечника. Таким образом, при экспериментально моделируемом отравлении барбитуратами наблюдается не только угнетение функций ЦНС, но и значительные и длительные перестройки функционального состояния желудочно-кишечного тракта.

Ключевые слова: тиопентал натрия, отравление, моторика кишечника, микробиота

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Тропская Н.С., Кислякова Е.А., Вилкова И.Г., Гурман Ю.В., Кислицына О.С., Жеребцов А.В., Бородина Е.Н., Черненькая Т.В., Попова Т.С. Нарушения функционального состояния ЦНС, перистальтики кишечника и микробиоценоза при отравлении барбитуратами в эксперименте. *Биомедицина*. 2022;18(3):45–49. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-45-49>

Поступила 04.04.2022

Принята после доработки 18.04.2022

Опубликована 10.09.2022

DISORDERS IN THE FUNCTIONAL STATE OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM, INTESTINAL PERISTALSIS AND MICROBIOCENOSIS IN EXPERIMENTAL BARBITURATE POISONING

Nataliya S. Tropkaya^{1,2,*}, Ekaterina A. Kislyakova¹, Irina G. Vilkova¹,
Yulia V. Gurman¹, Oksana S. Kislitsyna¹, Alexey V. Zerebtzov¹,
Yevgeniya N. Borodina¹, Tatyana V. Chernen'kaya¹, Tamara S. Popova¹

¹N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Care Department
129090, Russian Federation, Moscow, Bolshaya Sukharevskaya Square, 3

²*Moscow Aviation Institute (National Research University)
125993, Russian Federation, Moscow, Volokolamskoe Highway, 4*

Following a single administration of sodium thiopental in high doses (85 mg/kg intraperitoneally), the animals demonstrated the absence or weakening of reflexes at the levels of the spinal cord, medulla oblongata, bridge and midbrain and cerebral cortex over the period of one day. Other signs included a pronounced hypothermia, a decrease in the respiratory rate and a violation of its rhythm, a distinct tendency to bradycardia. On days 1–3 after the administration of sodium thiopental, a restoration of the respiratory rate, heart rate, body temperature, and the functional state of the central nervous system at various levels was observed, with the exception of the cerebral cortex. In the long term, following the administration of sodium thiopental for up to 21 days, a depression of the functional state of the central nervous system at the level of the cerebral cortex, violation of coordinated propulsive peristalsis of the small intestine and intestinal microbiocenosis were detected. Hence, in experimentally simulated barbiturate poisoning, not only is the suppression of the functions of the central nervous system observed, but also significant and prolonged restructuring of the functional state of the gastrointestinal tract.

Keywords: sodium thiopental, poisoning, intestinal motility, microbiota

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

For citation: Tropkaya N.S., Kislyakova E.A., Vilkoval I.G., Gurman Y.V., Kislitsyna O.S., Zerebtzov A.V., Borodina Y.N., Chernen'kaya T.V., Popova T.S. Disorders in the Functional State of the Central Nervous System, Intestinal Peristalsis and Microbiocenosis in Experimental Barbiturate Poisoning. *Journal Biomed.* 2022;18(3):45–49. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-2-45-49>

Submitted 04.04.2022

Revised 18.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Отравления барбитуратами составляют не менее 20–25% всех случаев острых отравлений, с которыми пациенты поступают в специализированные токсикологические стационары. Барбитураты относятся к группе седативно-гипнотических препаратов. Механизм действия барбитуратов основан на усилении ГАМК-опосредованного синаптического торможения и продления времени открытия хлорных каналов, что приводит к снижению скорости протекания метаболических процессов головного мозга и угнетению активности сенсомоторной зоны коры и дыхательного центра [3]. Среди проявлений острых отравлений веществами этой группы необходимо выделить развитие коматозного состояния, нарушение дыхательной и сердечно-сосудистой систем, развитие токсической и гипоксической энцефалопатии, выраженные сдвиги метаболизма, формирование полиорганной недостаточности [3, 4]. Патогенетические

механизмы отдалённых последствий отравлений этими препаратами ещё не до конца изучены.

Целью работы явилось изучение развития неврологических изменений и функциональных нарушений кишечника при отравлении барбитуратами в эксперименте.

Материалы и методы

Исследования выполнены на крысах-самцах Wistar (n=54) массой тела 400–450 г в возрасте 12 мес. Протокол исследования был одобрен локальным комитетом по биомедицинской этике НИИ СП им. Н.В. Склифосовского.

Крысы адаптировались в течение 1 мес. в виварии. Все животные содержались в лаборатории в контролируемых условиях окружающей среды при температуре 20–24 °С и влажности 45–65%, с режимом освещённости 12/12 (с 8⁰⁰ до 20⁰⁰ — свет, с 20⁰⁰ до 8⁰⁰ — сумеречное освещение).

Моделировались последствия острого отравления барбитуратами путём однократного введения тиопентала натрия (модель комы) в дозе 85 мг/кг массы животного внутривентриально [1].

Состояние животных, отравленных тиопенталом натрия, оценивалось в ранние сроки — через 1, 3, 6 и 24 ч, а также на поздние сроки — 2, 3, 7, 14, 21 и 28 сут. после введения токсиканта по клинической картине интоксикации (неврологические тесты) [2] и изменению витальных показателей (частота сердечных сокращений (ЧСС), частота дыхания (ЧД), ректальная температура).

Кроме того, на поздние сроки (2, 3, 7, 14, 21 и 28 сут.) после введения токсиканта проводили забор содержимого тощей (20 см за связкой Трейтца) и слепой кишки для бактериологического анализа, и в отдельных экспериментах проводили регистрацию электрической активности тонкой кишки с вживлённых электродов.

Данные представлялись в виде медианы и перцентилей. Для статистического анализа использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Статистически значимыми считались значения с $p < 0,05$.

Результаты исследований

В ранние сроки после введения высоких доз тиопентала натрия у животных наблюдали отсутствие или ослабление рефлексов на разных уровнях: спинного мозга (рефлекс отдёргивания хвоста), продолговатого мозга (аудиомоторная реакция, роговичный рефлекс, глоточный рефлекс), моста и среднего мозга (рефлексы переворачивания, зрачковые реакции) и коры больших полушарий (тесты для исследования равновесия). Животные принимали боковое положение. Отмечалась выраженная гипотермия, снижение ЧД и нарушение его ритма. У животных развивалась отчётливая тенденция к брадикардии.

Выход выживших животных из тиопенталовой комы (восстановление ритма и глу-

бины дыхательных движений с сохранением снижения ЧД, постепенное увеличение ЧСС, появление пароксизмов двигательной активности — движения хвоста и конечностей) на фоне сохраняющегося бокового положения отмечался через 6–7 ч.

В 1–3-е сут. после введения высоких доз тиопентала натрия наблюдалась нормализация температуры тела, восстановление ЧД и ЧСС, восстановление функционального состояния ЦНС на различных уровнях, за исключением коры больших полушарий. Необходимо отметить, что угнетение функционального состояния ЦНС на уровне коры головного мозга продолжалось до 21-х сут.

По данным электрофизиологических исследований, в фоновых записях у крыс регистрировался мигрирующий миоэлектрический комплекс (ММК), являющийся основным маркером электрической активности тонкой кишки в норме. После введения тиопентала натрия в ранние сроки и вплоть до 14-х сут. наблюдалось разрушение нормального ММК. Такие изменения свидетельствовали о значительных нарушениях координированной электрической спайковой активности. В последующие сроки наблюдения (21-е и 28-е сут.) происходила постепенная нормализация параметров электрической активности тонкой кишки.

В содержимом тощей и слепой кишки было оценено содержание различных видов микроорганизмов у интактных крыс и у животных после введения тиопентала натрия. У интактных животных в полостном содержимом и пристеночном слое тощей кишки отсутствовали или высеивались в незначительных титрах практически все виды изучаемых микроорганизмов. В содержимом слепой кишки, напротив, выявлены все изучаемые штаммы. По сравнению с интактными животными, у крыс после введения тиопентала натрия на 2-е сут. наблюдали снижение (на несколько порядков) численности *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp.,

Lactobacillus spp. и *Bifidobacterium* spp. в содержимом слепой кишки. На 7-е и 14-е сут. численность микроорганизмов в содержимом слепой кишки практически восстанавливалась (за исключением *Staphylococcus* spp.), однако происходила восходящая миграция нормальных эубионтов и представителей условно-патогенной микрофлоры из слепой в верхние отделы тонкой кишки. На 21-е и 28-е сут. в полостном содержимом и пристеночном слое тощей кишки отсутствовали практически все виды изучаемых микроорганизмов. При этом в содержимом слепой кишки

численность нормальных эубионтов была значительно снижена. Таким образом, после введения тиопентала натрия в высоких дозах происходит перераспределение видового состава микрофлоры и изменение микробиоценоза кишечника.

Вывод

При экспериментально моделируемом отравлении барбитуратами наблюдается не только угнетение функций ЦНС, но и значительные и длительные перестройки функционального состояния пищеварительного тракта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Башарин В.А., Гребенюк А.Н., Бонитенко Е.Ю., Иванов М.Б., Макарова Н.В. Экспериментальная модель барбитуратной комы. *Токсикологический вестник*. 2010;4(103):21–25. [Basharin V.A., Grebenyuk A.N., Bonitenko E.Yu., Ivanov M.B., Makarova Eksperimental'naya model' barbituratnoj komy [Experimental model of barbiturate-induced coma]. *Toksikologicheskij vestnik [Toxicological Review]*. 2010;4(103):21–25. (In Russian)].
2. Бонитенко Е.Ю., Головки А.И., Башарин В.А., Иванов М.Б., Петров А.Н., Макарова Н.В. Алгоритм экспериментального моделирования токсической комы у крыс. *Medline.ru. Российский биомедицинский журнал*. 2010;11:718–735. [Bonitenko E.Yu., Golovko A.I., Basharin V.A., Ivanov M.B., Petrov A.N., Makarova N.V. Algoritm eksperimental'nogo modelirovaniya toksicheskoj komy u krys [Algorithm of experimental modelling of the toxic coma at rats]. *Medline.ru. Russian Biomedical Journal*. 2010;11:718–735. (In Russian)].
3. Кострова Т.А., Лисицкий Д.С., Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Золотоверхая Е.А., Щепеткова К.М., Жилиева Е.Х., Зайцева М.А., Лапина Н.В., Степанов С.В. Исследование сочетанного действия тиопентала натрия и нарушения циркадианных ритмов на поведенческие реакции лабораторных животных. *Medline.ru. Российский биомедицинский журнал*. 2018;19(1):167–181. [Kostrova T.A., Lisitskiy D.S., Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Zolotoverkhaya E.A., Shchepetkova K.M., Zhilyayeva E.Kh., Zaytseva M.A., Lapina N.V., Stepanov S.V. Issledovanie sochetannogo dejstviya tiopentala natriya i narusheniya cirkadiannykh ritmov na povedencheskie reakcii laboratornykh zhivotnykh [Investigation of the consistent action of thiopental sodium the infringement of circadian rhythms on behavioral reactions of laboratory animals]. *Medline.ru. Russian Biomedical Journal*. 2018;19(1):167–181. (In Russian)].
4. Рейнюк В.Л., Шефер Т.В., Малаховский В.Н., Овсепьян Р.В., Ивницкий Ю.Ю. Гипераммониемия у крыс при барбитуратной коме. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2007;143(3):308–311. [Rejnyuk V.L., Shefer T.V., Malahovskij V.N., Ovsep'yan, R.V., Ivnickij Yu.Yu. Giperammoniemiya u krys pri barbituratnoj kome [Hyperammonemia in rats with barbiturate coma]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2007;143(3):308–311. (In Russian)].

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Тропская Наталия Сергеевна*, д.б.н., ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», ФГБОУ ВО «Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет)»;
e-mail: ntropskaya@mail.ru

Nataliya S. Tropuskaya*, Dr. Sci. (Biol.), N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Care Department; Moscow Aviation Institute (National Research University);
e-mail: ntropskaya@mail.ru

Кислякова Екатерина Александровна, к.б.н.,
ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой
помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: kisliakovakatia@mail.ru

Ekaterina A. Kislyakova, Cand. Sci. (Biol.),
N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency
Medicine of the Moscow Health Care Department;
e-mail: kisliakovakatia@mail.ru

Вилкова Ирина Геннадьевна, ГБУЗ «Научно-
исследовательский институт скорой помощи
им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: vilkovaig@yandex.ru

Irina G. Vilkova, N.V. Sklifosovsky Research
Institute for Emergency Medicine of the Moscow
Health Care Department;
e-mail: vilkovaig@yandex.ru

Гурман Юлия Валерьевна, ГБУЗ «Научно-
исследовательский институт скорой помощи
им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: julka_gurman95@mail.ru

Yulia V. Gurman, N.V. Sklifosovsky Research
Institute for Emergency Medicine of the Moscow
Health Care Department;
e-mail: julka_gurman95@mail.ru

Кислицына Оксана Сергеевна, ГБУЗ «Научно-
исследовательский институт скорой помощи
им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: calesco@mail.ru

Oksana S. Kislitsyna, N.V. Sklifosovsky Research
Institute for Emergency Medicine of the Moscow
Health Care Department;
e-mail: calesco@mail.ru

Жеребцов Алексей Вячеславович, ГБУЗ
«Научно-исследовательский институт скорой
помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: alxzherebtsov@phystech.edu

Alexey V. Zerebtzov, N.V. Sklifosovsky Research
Institute for Emergency Medicine of the Moscow
Health Care Department;
e-mail: alxzherebtsov@phystech.edu

Бородина Евгения Никитична, ГБУЗ «Научно-
исследовательский институт скорой помощи
им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: Januaria@list.ru

Yevgeniya N. Borodina, N.V. Sklifosovsky
Research Institute for Emergency Medicine
of the Moscow Health Care Department;
e-mail: Januaria@list.ru

Черненькая Татьяна Витальевна, к.м.н., ГБУЗ
«Научно-исследовательский институт скорой
помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: chernenkayat@rambler.ru

Tatyana V. Chernen'kaya, Cand. Sci. (Med.),
N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency
Medicine of the Moscow Health Care Department;
e-mail: chernenkayat@rambler.ru

Попова Тамара Сергеевна, д.б.н., проф., ГБУЗ
«Научно-исследовательский институт скорой
помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: popovanutr@mail.ru

Tamara S. Popova, Dr. Sci. (Biol.), Prof.,
N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency
Medicine of the Moscow Health Care Department;
e-mail: popovanutr@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



АНТИОКСИДАНТНЫЙ ЭФФЕКТ ЭКСТРАКТОВ ПЕПТИДНОЙ ПРИРОДЫ С МОДИФИЦИРОВАННЫМ ВЫСВОБОЖДЕНИЕМ ПРИ СВЕТОВОМ ДЕСИНХРОНОЗЕ

А.В. Шарабанов^{1,*}, Е.Г. Батоцыренова^{2,3}, В.А. Кашуро^{3,4}, М.Т. Гасанов¹, Ю.В. Комов³

¹ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»

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

²ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»
192019, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1

³ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский
университет» Минздрава России

194100, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

⁴ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена»
191186, Российская Федерация, Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, 48

Данная работа направлена на создание новых отечественных лекарственных препаратов с модифицированным высвобождением действующих веществ пептидной природы, получаемых из возобновляемых источников сырья биологического происхождения, с целью фармакологической коррекции десинхронозов путём воздействия биологически активными веществами на процессы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты клеток, для повышения резистентности организма к отрицательному воздействию различных стресс-факторов.

Проведённые исследования подтвердили эффективность экстрактов пептидной природы с модифицированным высвобождением для коррекции оксидативного статуса организма при различных видах десинхронозов.

Ключевые слова: экстракты пептидной природы, пролонгированное действие, световой десинхроноз, биоактивные пептиды эпифиза и гипофиза, фармакологическая коррекция

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Шарабанов А.В., Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Гасанов М.Т., Комов Ю.В. Антиоксидантный эффект экстрактов пептидной природы с модифицированным высвобождением при световом десинхронозе. *Биомедицина*. 2022;18(3):50–57. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-50-57>

Поступила 29.03.2022

Принята после доработки 11.04.2022

Опубликована 10.09.2022

ANTIOXIDANT EFFECTS OF MODIFIED-RELEASE PEPTIDE EXTRACTS IN CORRECTING LIGHT DESYNCHRONOSIS

Andrey V. Sharabanov^{1,*}, Ekaterina G. Batotsyrenova^{2,3}, Vadim A. Kashuro^{3,4},
Melik T. Gasanov¹, Yuriy V. Komov³

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

²Golikhov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
192019, Russian Federation, Saint Petersburg, Bekhtereva Str., 1

³St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health Care of Russia
194100, Russian Federation, Saint-Petersburg, Litovskaya Str., 2

⁴Herzen State Pedagogical University of Russia
191186, Russian Federation, Saint Petersburg, embankment of the Moika River, 48

This research was aimed at creating novel domestic medical preparations with a modified release of active peptide substances obtained from renewable sources of biological materials. These preparations can be used for the purposes of pharmacological correction of desynchronization by the action of biologically active substances on the processes of lipid peroxidation and antioxidant protection of cells in order to increase the body's resistance to the negative effects of various stress factors. The conducted studies have confirmed the efficacy of modified-release peptide extracts when correcting the body's oxidative status in various types of desynchronization.

Keywords: peptide extracts, prolonged action, light desynchronization, bioactive peptides of the epiphysis and pituitary gland, pharmacological correction

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

Funding: grant of the FSBSI SC FHHRP "Youth Project of the Year".

For citation: Sharabanov A.V., Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Gasanov M.T., Komov Y.V. Antioxidant Effects of Modified-Release Peptide Extracts in Correcting Light Desynchronization. *Journal Biomed.* 2022;18(3):50–57. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-50-57>

Submitted 29.03.2022

Revised 11.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

В данной работе описывается возможность влияния на процессы внутриклеточного сигналинга путём фармакологического воздействия биологически активными веществами, в частности — пептидами, на процессы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты клеток. Итогом предыдущих этапов работы по данной теме стала разработка лабораторного регламента получения экстрактов пептидной природы из возобновляемых источников сырья биологического происхождения, был получен патент на изобретение № RU 2696773 «Способ получения лекарственного препарата пептидной природы с контролируемым и последовательным высвобождением», а также было установлено наличие способности данных экстрактов в условиях светового десинхроноза увеличивать двигательную активность лабораторных животных на 30–60% по сравнению с контрольными значениями в тесте свободного поведения.

В предыдущей работе интраназальное введение крысам пептидного продукта гипофиза на протяжении двух недель в условиях длительного воздействия светового десинхроноза выявило перспективность поиска средств увеличения резистентности организма к неблагоприятным воздействиям факторов внешней среды среди биологических продуктов с антиоксидантной активностью [1].

Большая роль в разработке этого направления фармакологии принадлежит немецкому исследователю-иммунологу, профессору К.Е. Тойперу (патент DE № 1090821 от 16.12.1956, DE 1040748 от 20.05.1957), чьи работы основаны на клеточной технологии и получении пептидов массой менее 30 кДа, обладающих органной и тканевой специфичностью с антиоксидантными свойствами (АОС). Циркадианные ритмы контролируют чувствительность многих биологических мишеней к биологически активным веществам, что используется для достижения максимальной эффективности препарата [4].

В связи с чем **целью** данного исследования явилось изучение влияния экстрактов пептидной природы (ЭПП) из эпифиза и гипофиза северного оленя (*Rangifer tarandus*) и препарата сравнения — дельта-сон индуцирующего пептида (ДСИП) на АОС крови крыс в условиях светового десинхроноза.

Материалы и методы

Моделирование десинхроноза производилось на 72 двухмесячных лабораторных белых беспородных крысах массой 180 ± 20 г, которые методом рандомизации были разделены на три основные группы по 6 животных: I группа — контрольная, в которой моделировался режим обычного освещения (день/ночь — 12/12); II группа содержалась в режиме постоянного освещения; III группа содержалась в режиме постоянной темноты. Формирование десинхроноза осуществлялось в течение 30 дней, в течение которых первые 14 дней крысам вводили исследуемые вещества, по 10 мкл на особь, интраназально. Экспериментальные животные получали: ЭПП в дозе 10 мкг; ЭПП в дозе 100 мкг (на рисунках — доза 2); ДСИП в дозе 100 мкг. Контрольные (интактные) животные получали физ. р-р в эквивалентном количестве. Изучаемые субстанции, плацебо и препарат сравнения вводили последовательно в 11⁰⁰ и 12⁰⁰, имитируя пролонгированность высвобождения действующих веществ.

В конце исследования крысы подвергались эвтаназии для забора крови с целью определения концентрации диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), активности ферментов АОС организма: супероксиддисмутазы (СОД), глутатионтрансферазы (ГТ) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ). Исследуемыми субстанциями являлись ЭПП, полученные из эпифиза и гипофиза северного оленя методом щадящего лизиса с последовательным их разведением, содержащие набор короткоцепочечных пептидов и олигопеп-

тидов с молекулярной массой 100–2000 Да, с незначительным включением минорных компонентов массой от 3000 Да [2–4]. В качестве препарата сравнения использовался синтетический аналог дельта-сон индуцирующего пептида (ДСИП) — эндогенный регуляторный пептид, который является интегративным звеном между нервной, эндокринной и иммунной системами организма.

Методики определения активности ферментов СОД, Г-6-ФДГ, активности ГТ и оценки ПОЛ, как ДК и МДА в исследуемых гемолизатах, представлены в статье [1]. Концентрацию исследуемых продуктов и активность ферментов в гемолизате эритроцитов пересчитывали на 1 г гемоглобина. Статистическую обработку данных выполняли с использованием программного обеспечения GraphPad Prism (ANOVA) методом дисперсионного анализа.

Результаты и их обсуждение

Динамика изменения концентрации ДК при курсовом введении ЭПП в двух дозах и ДСИП при различных режимах освещения отражена на рис. 1.

Как видно из рис. 1, ЭПП в двух дозах и ДСИП вне зависимости от вида десинхроноза стабилизируют активность ПОЛ, проявляющуюся снижением образования ДК. При этом наилучший эффект наблюдался при использовании ЭПП в высокой дозе по сравнению с низкой. Таким образом, в изучаемом аспекте оба исследуемых вещества оказывают положительное влияние на АОС крови в условиях нормального освещения и светового десинхроноза.

Динамика изменения концентрации МДА при курсовом введении ЭПП в двух дозах и ДСИП при различных режимах освещения отражена на рис. 2.

Как видно из рис. 2, все изучаемые соединения при обычном освещении оказывали статистически недостоверное

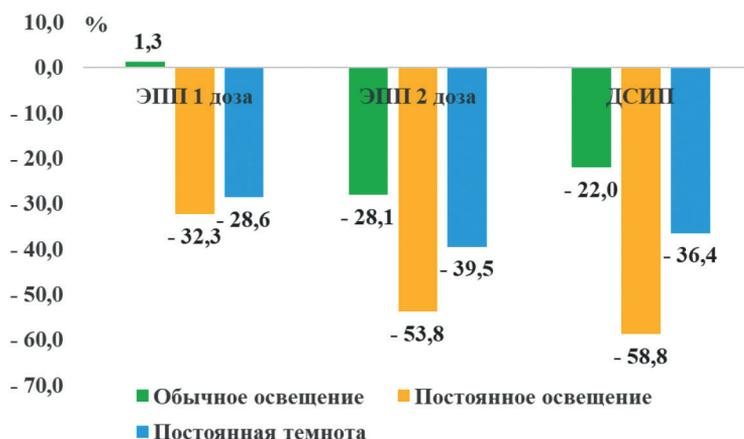


Рис. 1. Влияние курсового введения ЭПП в двух дозах и ДСИП на концентрацию ДК в гемолизате эритроцитов крыс (в % по отношению к контролю).

Fig. 1. Effects of a course administration of peptide extracts in two doses and those of a delta-sleep-inducing peptide on the concentration of diene conjugates in the hemolysate of rat erythrocytes (in % relative to control).

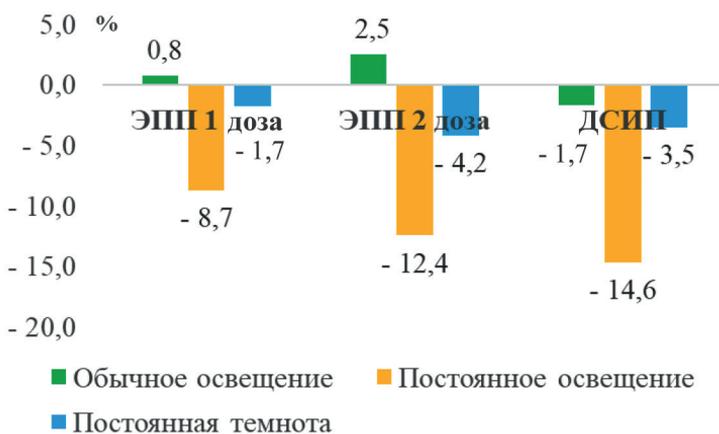


Рис. 2. Влияние курсового введения ЭПП в двух дозах и ДСИП на концентрацию МДА в гемолизате эритроцитов крыс (в % по отношению к контролю).

Fig. 2. Influence of course administration of extracts of peptide nature in two doses and delta-sleep-inducing peptide on the concentration of malondialdehyde in hemolysate of rat erythrocytes (in % relative to control).

влияние на концентрацию МДА в гемолизате эритроцитов. При постоянной темноте максимальный эффект наблюдался при использовании ЭПП в большой дозе, слабее действовал ДСИП. Наименьший эффект наблюдался при использовании ЭПП в ма-

лой дозе. Таким образом, все изучаемые субстанции в разных условиях освещения влияют на концентрацию продуктов ПОЛ и, в частности, МДА. При постоянном освещении максимальный эффект оказывает ДСИП, а в случае постоянной темноты наи-

большую эффективность продемонстрировал ЭПП, вводимый в высокой дозе.

Влияние изучаемых веществ на активность фермента СОД при различных режимах освещения представлено на рис. 3.

Курсовое введение всех изучаемых средств способствовало преимущественному повышению активности СОД. Можно заключить, что в изучаемом аспекте оба исследуемых вещества оказывают положительное влияние на АОС крови в условиях светового десинхроноза.

Влияние изучаемых веществ на активность фермента ГТ при различных режимах освещения представлено на рис. 4.

Как видно из рис. 4, изучаемые соединения оказывали разнонаправленное действие на активность ГТ при разных режимах освещения: при постоянной темноте — повышали, а при нормальном и постоянном освещении — снижали. Таким образом, положительное влияние обоих веществ отмечалось при темноте, максимальный эффект наблюдался при использовании ЭПП в высокой дозе.

Влияние изучаемых веществ на активность Г-6-ФДГ при различных режимах освещения представлено на рис. 5.

Как видно из рис. 5, оба исследуемых вещества в изучаемом аспекте оказывают преимущественно положительное влияние на АОС крови в условиях нормального освещения и светового десинхроноза. Наилучший эффект оказывают малые дозы ЭПП, повышая активность Г-6-ФДГ при всех режимах освещения аналогично действию высокой дозы ДСИП в условиях светового десинхроноза.

Результаты проведённой работы свидетельствуют о том, что экстракты пептидной природы с модифицированным высвобождением проявляют выраженный антиоксидантный эффект в дозах 10 и 100 мкг за счёт снижения концентрации продуктов ПОЛ и устранения дисбаланса ферментативного звена АОС.

Выводы:

1. ЭПП в концентрациях 10 и 100 мкг дозозависимо снижают активность пере-

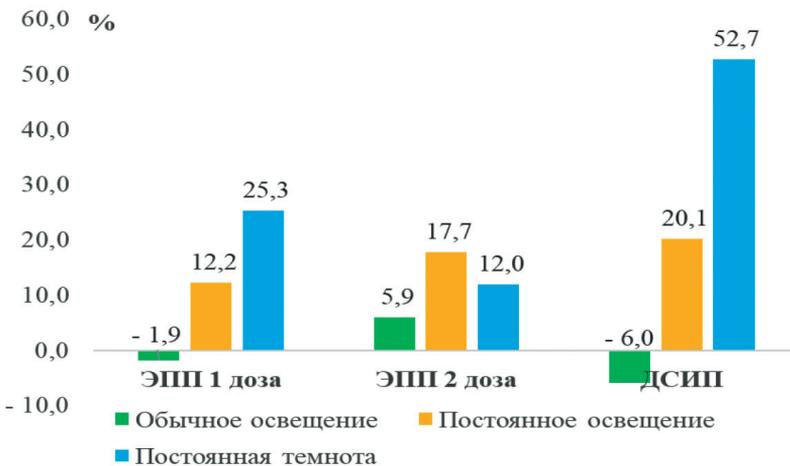


Рис. 3. Влияние курсового введения ЭПП в двух дозах и ДСИП на активность СОД в гемолизате эритроцитов крыс (в % по отношению к контролю).

Fig. 3. Effects of a course administration of peptide extracts in two doses and those of a delta-sleep-inducing peptide on the activity of superoxide dismutase in the hemolysate of rat erythrocytes (in % relative to control).

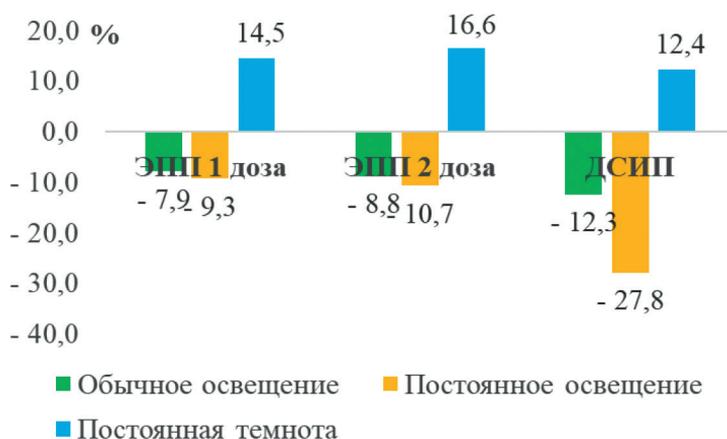


Рис. 4. Влияние курсового введения ЭПП в двух дозах и ДСИП на активность ГТ в гемолизате эритроцитов крыс (в % по отношению к контролю).

Fig. 4. Effects of a course administration of peptide extracts in two doses and those of a delta-sleep-inducing peptide on the activity of glutathione transferase in the hemolysate of rat erythrocytes (in % relative to control).

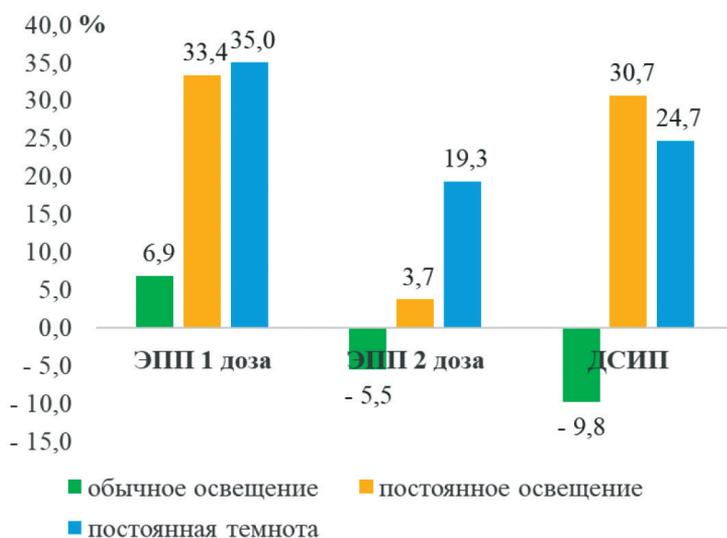


Рис. 5. Влияние курсового введения ЭПП в двух дозах и ДСИП на активность Г-6-ФДГ в гемолизате эритроцитов крыс (в % по отношению к контролю).

Fig. 5. Effects of a course administration of peptide extracts in two doses and those of a delta-sleep-inducing peptide on the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase in the hemolysate of rat erythrocytes (in % relative to control).

кисного окисления липидов вне зависимости от режима освещения, что проявляется снижением концентрации диеновых конъюгатов на 32,3 и 53,8% соответственно при постоянном освещении и на 28,6

и 39,5% соответственно — при постоянной темноте.

2. В условиях светового десинхроноза ЭПП в концентрациях 10 и 100 мкг уменьшают концентрацию малонового диальдеги-

да на 8,7 и 12,4% соответственно, при этом эффект ЭПП в высокой дозе сопоставим с таковым препарата сравнения — ДСИП.

3. В условиях светового десинхроноза тестируемый экстракт пептидной природы из эпифиза и гипофиза северного оленя, а также дельта-сон индуцирующий пептид повышают активность АОС в аспекте увеличения активности супероксиддисмутазы: ЭПП в дозах 10 и 100 мкг — на 12,7 и 17,7% соответственно при постоянном освещении и на 25,3 и 12,0% соответственно — при постоянной темноте.

4. Оба исследуемых вещества оказывают разнонаправленное действие на активность фермента глутатионтрансферазы в зависимости от режима освещения, повышая активность АОС в данном аспекте лишь при постоянной темноте. Наиболее значимый результат отмечается для ЭПП в дозе 100 мкг (16,6%).

5. В условиях нормального освещения и при световом десинхронозе ЭПП, вводимый в концентрации 10 мкг, увеличивает активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, наиболее выражено — при постоянном освещении (на 33,4%) и при постоянной темноте (на 35,0%). ЭПП и ДСИП в концентрациях 100 мкг оказывают сходные, но менее выраженные эффекты при десинхронозе.

6. Экстракты пептидной природы из эпифиза и гипофиза северного оленя (*Rangifer tarandus*) с модифицированным высвобождением проявляют выраженные антиоксидантные свойства в дозах 10 и 100 мкг за счёт снижения концентрации продуктов ПОЛ и устранения дисбаланса ферментативного звена АОС крови крыс в условиях светового десинхроноза. Наблюдаемые эффекты сопоставимы с действием дельта-сон индуцирующего пептида в дозе 100 мкг.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Шарабанов А.В., Козлов В.К., Коваленко А.Л. Эффективность пептидного продукта из гипофиза северного оленя в качестве антиоксидантного средства при сочетании воздействия светового десинхроноза и депримирующего токсиканта. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021;66(7–8):20–29. [Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Sharabanov A.V., Kozlov V.K., Kovalenko A.L. Effektivnost' peptidnogo produkta iz gipofiza severnogo olenya v kachestve antioksidantnogo sredstva pri sochetannom vozdeystvii svetovogo desinkhronoza i deprimiruyushchego toksikanta [Efficacy of a reindeer pituitary peptide product as an antioxidant under combined exposure to light desynchronization and a depriving toxicant]. *Antibiotics and chemotherapy*. 2021;66(7–8):20–29. (In Russian)]. DOI: 10.37489/0235-2990-2021-66-7-8-20-29.
2. Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Шарабанов А.В. Фармакологическая коррекция отдаленных последствий острого тяжёлого отравления тиопенталом натрия в условиях хронического светового десинхроноза. *Биомедицина*. 2021;17(3):23–28. [Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Sharabanov A.V. Farmakologicheskaya korrektsiya otdalennykh posledstviy ostrogo tyazhelogo otravleniya tiopentalom natriya v usloviyakh khronicheskogo svetovogo desinkhronoza [Pharmacological correction of long-term consequences of acute severe poisoning with sodium thiopental in chronic light desynchronization]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2021;17(3):23–28. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-17-3-23-28.
3. Батоцыренова Е.Г., Золотоверхая Е.А., Кашуро В.А., Шарабанов А.В. Изменение биохимических показателей в сыворотке крови крыс при хроническом световом десинхронозе. *Биомедицинская химия*. 2020;66(6):450–455. [Batotsyrenova E.G., Zolotoverkhaya E.A., Kashuro V.A., Sharabanov A.V. Izmenenie biokhimicheskikh pokazateley v syvorotke krovi krys pri khronicheskom svetovom desinkhronoze [Changes of biochemical parameters in blood serum rats under chronic light desynchronization]. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2020;66(6):450–455. (In Russian)]. DOI: 10.18097/PBMC20206606450.
4. Harder L., Oster H. Circadian rhythms — how do they influence our lives? *Dtsch. Med. Wochenschr*. 2019;144(15):1014–1017. DOI: 10.1055/a-0662-1950.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Шарабанов Андрей Вячеславович*, ФГБУН
«Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»;

e-mail: avsharabanov@gmail.com

Andrey V. Sharabanov*, Scientific Center
of Biomedical Technologies of the Federal Medical
and Biological Agency of Russia;

e-mail: avsharabanov@gmail.com

Батоцыренова Екатерина Геннадьевна, к.б.н.,
доц., ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии
имени академика С.Н. Голикова ФМБА
России»; ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный педиатрический медицинский
университет» Минздрава России;

e-mail: bkaterina2009@yandex.ru

Ekaterina G. Batotsyrenova, Cand. Sci. (Biol.),
Assoc. Prof., Golikov Research Clinical 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

Кашуро Вадим Анатольевич, д.м.н., доц.,
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный
педиатрический медицинский университет»
Минздрава России; ФГБОУ ВО
«Российский государственный педагогический
университет им. А.И. Герцена»;

e-mail: kashuro@yandex.ru

Vadim A. Kashuro, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof.,
St. Petersburg State Pediatric Medical University
of the Ministry of Health Care of Russia; Herzen
State Pedagogical University of Russia;

e-mail: kashuro@yandex.ru

Гасанов Мелик Тофикович, к.м.н., доц., ФГБУН
«Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»;

e-mail: m.gasanov@scbmt.ru

Melik T. Gasanov, Cand. Sci. (Med.), Assoc.
Prof., Scientific Center of Biomedical Technologies
of the Federal Medical and Biological Agency
of Russia;

e-mail: m.gasanov@scbmt.ru

Комов Юрий Вадимович, к.б.н., ФГБОУ ВО
«Санкт-Петербургский государственный педиатрический
медицинский университет»;

e-mail: barash1972@gmail.com

Yurij V. Komov, Cand. Sci. (Biol.), St. Petersburg
State Pediatric Medical University of the Ministry
of Health Care of Russia;

e-mail: barash1972@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ГИПОХЛОРГИДРИИ

И.Г. Вилкова¹, Н.С. Тропская^{1,2,*}, Т.В. Черненькая¹, Т.С. Попова¹

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

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

На экспериментальной модели гипохлоргидрии, вызванной внутрижелудочным введением рабепразола в течение 16 сут., исследованы изменения основных параметров электрической активности тонкой кишки у крыс. Показано, что гипохлоргидрия приводит к увеличению длительности нерегулярной электрической активности и уменьшению времени покоя, что свидетельствует об усилении некоординированных сокращений тонкой кишки. Уменьшение числа мигрирующих миоэлектрических комплексов и, следовательно, частичное подавление пропульсивной перистальтики способствует избыточному бактериальному росту в проксимальном отделе тонкой кишки.

Ключевые слова: гипохлоргидрия, мигрирующий миоэлектрический комплекс, тощая кишка

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования: грант ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ «Молодёжный проект года».

Для цитирования: Вилкова И.Г., Тропская Н.С., Черненькая Т.В., Попова Т.С. Электрическая активность тонкой кишки при экспериментальном моделировании гипохлоргидрии. *Биомедицина*. 2022;18(3):58–61. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-58-61>

Поступила 04.04.2022

Принята после доработки 18.04.2022

Опубликована 10.09.2022

SMALL BOWEL ELECTRICAL ACTIVITY IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF HYPOCHLORHYDRIA

Irina G. Vilkova¹, Nataliya S. Tropskaya^{1,2,*}, Tatyana V. Chernen'kaya¹, Tamara S. Popova¹

¹N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Care Department
129090, Russian Federation, Moscow, Bolshaya Sukharevskaya Square, 3

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

Variations in the basic parameters of the electrical activity of the small intestine in rats were studied using an experimental model of hypochlorhydria caused by an intragastric administration of rabeprazole for 16 days. Hypochlorhydria was found to lead to an increased duration of irregular electric activity and a reduction in the period of quiescence, which indicates an increase in uncoordinated contractions of the small intestine. A decrease in the number of migrating myoelectric complexes and, consequently, a partial suppression of propulsive peristalsis contributes to an excessive bacterial overgrowth in the proximal small intestine.

Keywords: hypochlorhydria, migrating myoelectrical complex, jejunum

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

For citation: Vilkova I.G., Tropkaya N.S., Chernen'kaya T.V., Popova T.S. Small Bowel Electrical Activity in an Experimental Model of Hypochlorhydria. *Journal Biomed.* 2022;18(3):58–61. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-58-61>

Submitted 04.04.2022

Revised 18.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Для моделирования гипохлоргидрии в основном используют ингибиторы протонной помпы — средства, снижающие кислотопродукцию в желудке. Наиболее эффективным препаратом, обладающим продолжительным антисекреторным эффектом, является рабепразол [2]. При гипохлоргидрии наблюдается колонизация микрофлорой проксимальных отделов тонкой кишки, усиливается восприимчивость организма к кишечной инфекции и энтеровирусам [1, 3]. Соляная кислота необходима для правильной работы сфинктеров желудка и дальнейшего продвижения его содержимого, она защищает желудочно-кишечный тракт от поступающих в него микробов. Также в предотвращении избыточного бактериального роста и транслокации важную роль играет моторика кишечника. Основным маркером нормальной координированной пропульсивной перистальтики тонкой кишки является мигрирующий миоэлектрический комплекс (ММК) [4, 5]. Однако неясным остаётся вопрос об изменении ММК проксимальных отделов тонкой кишки при снижении кислотопродукции в желудке.

Цель работы – изучить характер изменений ММК тонкой кишки в условиях гипохлоргидрии.

Материалы и методы

Исследования выполнены на 6 крысах-самцах Wistar массой тела 420–490 г. Протокол исследований был одобрен локальным комитетом по биомедицинской

этике НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. Все животные содержались в лаборатории в контролируемых условиях окружающей среды: температура 20–24 °С, влажность 45–65%, режим освещённости 12/12 (с 8⁰⁰ до 20⁰⁰ — свет, с 20⁰⁰ до 8⁰⁰ — сумеречное освещение). Животные имели свободный доступ к корму и воде. За 7 дней до начала эксперимента животным под наркозом имплантировались зонд в антральную часть желудка (для введения лекарственных средств) и три электрода в тощую кишку на расстоянии 5, 10, 15 см от связки Трейтца, референтный электрод вживлялся в стенку брюшной полости. Всем животным ежедневно внутривенно однократно вводили р-р рабепразола в дозе 0,14 мг/кг на протяжении 16 сут. Записи электрической активности проводили ежедневно после 18-часовой пищевой депривации. До и после введения рабепразола ежедневно измерялся рН содержимого желудка с помощью лакмусовой индикаторной бумаги. На 17-е сут. выполнялась запись электрической активности и животных выводили из эксперимента летальной дозой наркотика. Данные представлялись в виде медианы и перцентилей. Для статистического анализа использовали непараметрические критерии.

Результаты исследований

На протяжении эксперимента фоновые значения рН содержимого желудка постепенно повышались: в 1-й день рН составлял 2 (2; 2); во 2-й день — 3,5 (2; 4,5), $p > 0,05$; в 3-й день — 5,5 (5,5; 5,5), $p < 0,05$. Отметим, что на 9-й день происходило устойчивое по-

вышение pH до 6,5 (6,5; 7), $p < 0,05$, с сохранением результатов в последующие дни введений (вплоть до 17-го дня эксперимента).

Анализ данных электрофизиологических исследований показал, что до начала эксперимента в фоновых записях электрическая активность тощей кишки характеризовалась выраженной ритмичностью с наличием ММК, состоящим из трёх последовательных фаз: фазы покоя (фаза I), фазы нерегулярной активности (фаза II), фазы регулярной активности (фаза III). Регистрировалось 3–4 ММК в час. Длительность I фазы составила 31,2 (28,3; 34) %, II фазы – 45,9 (42,9; 49,6) %, III фазы – 20,9 (17,3; 24,9) %. Период ММК составлял 645 (560; 743) сек. Зарегистрированные параметры ММК соответствовали значениям у здоровых крыс.

С 1-го по 3-й день эксперимента каких-либо значимых изменений в электрической активности тонкой кишки не наблюдалось. С 4-го по 8-й день длительность I фазы статистически значимо уменьшалась, в то время как длительность II фазы возрастала по сравнению с фоновыми значениями. Длительность III фазы и период ММК не изменялись и составляли соответственно 16,4 (11,5; 23,7) %, $p > 0,05$, и 590 (510; 865) сек, $p > 0,05$. Регистрировалось 1–3 ММК в час. В последующие дни эксперимента (с 9-го по 17-й день) параметры ММК существенно не изменились, однако количество ММК уменьшилось до 1–2 в час, $p < 0,05$.

Ранее нами были получены данные, касающиеся изменений микробиоты тощей и слепой кишок при длительном введении рабепразола [3]. В результате этих исследований был установлен избыточный рост бактерий *Enterococcus* spp. в проксимальном отделе тощей кишки, до 10^5 (10^4 ; 10^5) КОЕ/мл, и *E. coli* – до 10^7 (10^6 ; 10^9) КОЕ/мл. Кроме того, выявлялось исчезновение количественного повышающегося проксимо-дистального градиента в отношении некоторых бактерий (*Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. и *E. coli*): их численность не отличалась в тощей и слепой кишках. Таким образом, устойчивое снижение кислотопродукции в желудке приводит к уменьшению пропульсивной перистальтики и избыточному бактериальному росту в верхних отделах тонкой кишки.

Выводы

При гипохлоргидрии наблюдается увеличение длительности нерегулярной активности с уменьшением времени покоя, что способствует усилению некоординированных сокращений тонкой кишки. Урежение цикла мигрирующих миоэлектрических комплексов, уменьшение числа распространяющихся комплексов и, следовательно, частичное подавление пропульсивной перистальтики способствует избыточному бактериальному росту, который и наблюдается в проксимальном отделе тонкой кишки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Ардатская М.Д., Минущкин О.Н., Иконников Н.С. Дисбактериоз кишечника: понятие, диагностические подходы и пути коррекции. Возможности и преимущества биохимического исследования кала. М.: Просвещение; 2004: [Ardatskaya M.D., Minushkin O.N., Ikonnikov N.S. Disbakterioz kischechnika: ponyatie, diagnosticheskie podhody i puti korrektsii. Vozmozhnosti i preimushchestva biokhimitseskogo issledovaniya kala [Intestinal dysbacteriosis: conclusion, diagnostic approaches and ways of correction. Opportunities and advantages of biochemical study of feces]. Moscow: Prosveshchenie Publ.; 2004: (In Russian)].
2. Стародубцев А.К., Федоров С.П., Сереброва С.Ю., Кондратенко С.Н., Белякова Г.А. Оценка клинической эффективности рабепразола в зависимости от индивидуального типа рецепции париетальных клеток при различных кислотозависимых заболеваниях желудка и двенадцатиперстной кишки. *Биомедицина*. 2010;1:69–77. [Starodubcev A.K., Fedorov S.P., Serebrova S.Yu., Kondratenko S.N., Belyakova G.A. Ocenka klinicheskoy effektivnosti rabeprazola v zavisimosti ot individual'nogo tipa recepcii parietal'nyh kletok pri razlichnyh kislotozavisimyh zabolevaniyah zheludka i dvenadcatiperstnoy kishki

[Clinical efficiency of rabeprazole depending on the individual type of gastric parietal cell reception in patients with different acid-dependent diseases of stomach and duodenum]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2010;1:69–77. (In Russian)].

3. Тропская Н.С., Шашкова И.Г., Черненькая Т.В., Попова Т.С., Капанадзе Г.Д. Влияние кислотности желудочного сока на микрофлору кишечника. *Биомедицина*. 2016;4:92–98. [Tropskaya N.S., Shashkova I.G., Chernen'kaya T.V., Popova T.S., Kapranadze G.D. Vliyaniye kislotnosti zheludochnogo

soka na mikrofloru kishechnika [Influence of gastric acidity on intestinal microflora]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2016(4):92–98. (In Russian)].

4. Gasbarrini A., Lauritano E.C., Garcovich M., Sparano L., Gasbarrini G. New insights into the pathophysiology of IBS: intestinal microflora, gas production and gut motility. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2008;1:111–117.
5. Quigley E.M. Microflora Modulation of Motility. *J. Neurogastroenterol. Motil.* 2011;17(2):140–147. DOI: 10.5056/jnm.2011.17.2.140.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Вилкова Ирина Геннадьевна, ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: vilkovairena@yandex.ru

Irina G. Vilkova, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Care Department;
e-mail: vilkovairena@yandex.ru

Тропская Наталия Сергеевна*, д.б.н., ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», ФГБОУ ВО «Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет)»;
e-mail: ntropskaya@mail.ru

Nataliya S. Tropskaya*, Dr. Sci. (Biol.), N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Care Department; Moscow Aviation Institute (National Research University);
e-mail: ntropskaya@mail.ru

Черненькая Татьяна Витальевна, к.м.н., ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: chernenkayat@rambler.ru

Tatyana V. Chernen'kaya, Cand. Sci. (Med.), N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Care Department;
e-mail: chernenkayat@rambler.ru

Попова Тамара Сергеевна, д.б.н., проф., ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: popovanutr@mail.ru

Tamara S. Popova, Dr. Sci. (Biol.), Prof., N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Care Department;
e-mail: popovanutr@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-62-66>



МАЛАЯ ДЛИННОХВОСТАЯ ШИНШИЛЛА — ПЕРСПЕКТИВНАЯ МОДЕЛЬ В БИОМЕДИЦИНЕ

Д.В. Петров^{1,*}, А.А. Иванов², Е.В. Панина², Н.В. Петрова¹, Н.А. Ларюшина¹

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

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

В статье представлен краткий обзор о перспективах использования малой длиннохвостой шиншиллы в качестве модели для биомедицинских исследований.

Ключевые слова: лабораторные животные, биомодель, *Chinchilla lanigera*

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования: грант ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ «Молодёжный проект года».

Для цитирования: Петров Д.В., Иванов А.А., Панина Е.В., Петрова Н.В., Ларюшина Н.А. Малая длиннохвостая шиншилла — перспективная модель в биомедицине. *Биомедицина*. 2022;18(3):62–66.

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-62-66>

Поступила 15.03.2022

Принята после доработки 11.04.2022

Опубликована 10.09.2022

CHINCHILLA LANIGERA — A PROMISING MODEL IN BIOMEDICINE

Dmitry V. Petrov^{1,*}, Alexey A. Ivanov², Elena V. Panina², Natalia V. Petrova¹,
Nadezhda A. Laryushina¹

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

²Russian Timiryazev State Agrarian University
127434, Russian Federation, Moscow, Timiryazevskaya Str., 49

The article presents a brief overview of the prospects for using the long-tailed chinchilla as a model in biomedical research.

Keywords: laboratory animals, biomodel, *Chinchilla lanigera*

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

For citation: Petrov D.V., Ivanov A.A., Panina E.V., Petrova N.V., Laryushina N.A. Chinchilla Lanigera — a Promising Model in Biomedicine. *Journal Biomed*. 2022;18(3):62–66. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-62-66>

Submitted 15.03.2022

Revised 11.04.2022

Published 10.09.2022

Для изучения организма человека с теоретических позиций, его строения и функций в норме и патологии, методов диагностики, коррекции и лечения в медицине возник раздел, именуемый биомедициной, включающий накопленные сведения и исследования в трансляционной и общей медицине, ветеринарии, биологии, генетике, физиологии и патологии. Помимо анатомических, гистологических, эмбриологических и микробиологических методов, биомедицина использует достижения молекулярной и клеточной биологии, а также биомедицинской инженерии, в т. ч. создание биологических моделей — животных, биология которых близка к человеческой. В качестве таких биомоделей используются свиньи, кролики, крысы и мыши. Относительно недавно в их число вошла малая длиннохвостая шиншилла (*Chinchilla lanigera*) — грызун, обитающий в горах Южной Америки. Шиншиллы были впервые одомашнены в начале 1920-х гг. американским инженером Маттасом Ф. Чепменом. В настоящее время существуют тысячи шиншилловых ферм, некоторые из которых разводят шиншиллы для биомедицинских исследований, а другие — для утилитарных целей.

Существует ряд анатомических, физиологических и поведенческих преимуществ, которые оправдывают использование шиншиллы для акустических, этологических, репродуктивных исследований и делают их чрезвычайно ценной моделью животных для науки. Кроме того, долгая продолжительность жизни шиншиллы (примерно до 10 лет в дикой природе и до 15–20 лет в лабораторных условиях) делают её пригодной для краткосрочных или долгосрочных исследований.

Устойчивость к хроническим операциям обеспечивают дополнительные значительные преимущества, которые позволяют проводить широкий спектр физиологических измерений у обездвиженных бодрствующих животных [5], а также длительные

(больше 24–36 ч) нейрофизиологические эксперименты [2].

Многие морфологические характеристики шиншиллы делают её ценной моделью животного для науки о слухе. Способность обучаться поведению с помощью акустических стимулов, имеющих отношение к человеческому слуху, послушный характер, позволяющий проводить различные физиологические измерения в состоянии бодрствования, физиологическая устойчивость, способствующая сбору данных со всех уровней слуховой системы, а также возможность моделировать различные типы кондуктивной и нейросенсорной тугоухости, имитирующие патологии, наблюдаемые у человека [7].

Важным преимуществом шиншиллы перед многими другими моделями грызунов является то, что их слуховая чувствительность и диапазон частот сходны с человеческими, а их средний диапазон слуха составляет от 50 Гц до 33 кГц. Анатомическое сходство с человеком включает такое же количество поворотов улитки (у людей — две и три четверти; у шиншиллы — три), аналогичные различия в длине улитки (диапазон среднего: люди — 33%, шиншиллы — 26%) и широкая барабанная перепонка. Учитывая эти характеристики, шиншиллы неоднократно использовались для изучения анатомических, физиологических и поведенческих эффектов непрерывного и импульсного воздействия шума, вызывающего временные или постоянные сдвиги порога. История шиншиллы как модели акустической травмы на животных также привела к ряду исследований, посвящённых фармакологическому воздействию и профилактике с использованием антиоксидантов и другие биологически активных соединений и препаратов, направленных на предотвращение или ограничение последствий шумовой травмы. Американские и китайские учёные считают шиншиллу золотым стандартом животных-моделей для изучения различ-

ных заболеваний среднего и внутренне-го уха, включая отит, фиксацию стремени и холестеатому.

Относительно продолжительный срок беременности (105–115 дней) по сравнению с другими грызунами (мышь — 19–20 дней, крыса — 21–23 дня, морская свинка — 59–72 дня), небольшое количество потомства (1–4 детёныша) и сходная по строению плацента гемохориального типа делает малую длиннохвостую шиншиллу подходящей биомоделью для акушерских исследований, потенциально полезной для неинвазивных измерений в плаценте, а также исследования плаценты и плода в длительных исследованиях.

Исследования с использованием шиншиллы для изучения биологии и патобиологии как бактериальных патогенов, так и вирусных патогенов, также увеличиваются. Кроме того, шиншилла используется для исследований в области физиологии почек, анатомии сердца и доклинической оценки новых и улучшенных вакцин для человека, что делает её идеальной моделью для изучения множества заболеваний человека и их профилактики. Из-за её ценности в качестве модельного организма в 2012 г. было завершено полногеномное секвенирование генома, за которым последовало секвенирование митохондриальной хромосомы. Доступность этих и других появляющихся наборов данных о геноме и экспрессии предоставляет исследователям необходимые ресурсы для расширения использования шиншиллы в качестве модельного организма для изучения болезней. Генетическое разнообразие шиншиллы, в отличие от некоторых линий мышей, способно лучше отражать разнообразие биологической реакции, с которой можно было бы столкнуться в клинических испытаниях на людях.

Известно, что в трихологии сформировался свой специфический подход к диагностике и классификации болезней волос

незаразной этиологии. Часть описанных заболеваний напрямую связана с морфофункциональными особенностями волосяного покрова зверей, их биологией, а также условиями содержания. Так, наиболее загадочным заболеванием является «стрижка», характеризующаяся скусыванием волосяного покрова животного. В 2014 г. Ревякин И.М., исследуя «стрижку» на примере норки, выявил аналогию таких заболеваний волос у человека, как трихотиломания, гнездовая алопеция и ломкость волос, одной из причин которых назвал повышенную тревожность [1]. Поскольку в звероводстве болезнь отмечена у многих пушных животных, то шиншилла может послужить подходящей моделью для более детального исследования в этом направлении с применением методов, позволяющих изучить причину, патогенез и, в итоге, разработать методы её лечения и профилактики как у животных, так и у человека.

В 2019–2021 гг. нами были проведены исследования по изучению влияния молекулярного водорода на физиологические показатели малой длиннохвостой шиншиллы, в т. ч. поведение, состояние волосяного покрова, общеклинические и биохимические показатели крови [3–5]. Результаты исследования показали, что введение водородного антиоксиданта в рацион малой длиннохвостой шиншиллы позволяет купировать стереотипное поведение и в значительной степени снизить выкусывание меха в процессе онтогенеза, сохраняет на высоком уровне адаптационные возможности организма.

Однако при содержании и разведении шиншиллы существуют определённые трудности. Из-за густого меха они более подвержены риску перегрева, чем остальные лабораторные животные. Температура выше 25 °С вызывает тепловой удар и является для них смертельной. Поэтому шиншиллу необходимо содержать при низких температурах от 16–19 °С и влажности не более 30–40%. Также шиншиллам необходимо

включать в рацион корма, богатые клетчаткой и белком, чтобы поддерживать здоровье пищеварительной системы. Шиншилл необходимо еженедельно купать в вулканическом песке, чтобы поглотить жир и влагу, скопившуюся в их мехе.

Также важно отметить, что 112-дневный период беременности шиншиллы значительно длиннее, чем у других лабораторных животных. Отъём щенков от самок за-

нимает около шести недель по сравнению с крысами и мышами, которым требуется всего три недели.

Таким образом, широкий потенциал возможностей использования животных в научных экспериментах, и, несмотря на некоторые сложности в разведении малой длиннохвостой шиншиллы, она является перспективным направлением в биомедицине России.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Ревякин И.М. «Стрижка» волосяного покрова у норок в контексте медицинской трихологии. *УО ВГАВМ*. 2014;50(1):131–134. [Revyakin I.M. «Strizhka» volosyanogo pokrova u norok v kontekste meditsinskoj trikhologii [“Haircut” of mink hairline in the context of medical trichology]. *УО ВГАВМ*. 2014;50(1):131–134. (In Russian)].
2. Kale S., Heinz M.G. Envelope coding in auditory nerve fibers following noise-induced hearing loss. *JARO*. 2010;11:657–673. DOI: 10.1007/s10162-010-0223-6.
3. Panina E., Ivanov A., Petrov D. Influence of molecular hydrogen on behavioral adaptation of *Chinchilla lanigera* taking into account gender factor in conditions of cage keeping. *BIO Web of Conferences* 2021;36. DOI: 10.1051/bioconf/20213607006.
4. Panina E., Ivanov A., Petrov D. The condition of the hairline of *Chinchilla lanigera* after the introduction of a hydrogen antioxidant into the diet. *BIO Web of Conferences* 2021;36. DOI: 10.1051/bioconf/2021360602.
5. Panina E.V., Ivanov A.A., Petrov D.V., Pantelev S.V. Behavior of *Chinchilla lanigera* under cage keeping with the introduction of molecular hydrogen into the diet. *E3S Web of Conferences*. 2021;254:08008.
6. Snyder D.L., Salvi R.J. A novel Chinchilla restraint device. *Lab. animal*. 1994;23(2):42–44.
7. Trevino M., Lobarinas E., Maulden A. The chinchilla animal model for hearing science and noise-induced hearing loss. *The Journal of the Acoustical Society of America*. 2019;146(5):3710. DOI: 10.1121/1.5132950.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Петров Дмитрий Валерьевич*, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: 1941-65@mail.ru

Иванов Алексей Алексеевич, д.б.н., проф., ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К.А. Тимирязева»;
e-mail: aivanov@rgau-msha.ru

Панина Елена Витальевна, к.б.н., доц., ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К.А. Тимирязева»;
e-mail: epanina@rgau-msha.ru

Dmitry V. Petrov*, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: 1941-65@mail.ru

Alexey A. Ivanov, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Russian Timiryazev State Agrarian University;
e-mail: aivanov@rgau-msha.ru

Elena V. Panina, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Russian Timiryazev State Agrarian University;
e-mail: epanina@rgau-msha.ru

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

e-mail: m-sklad@yandex.ru

Natalia V. Petrova, Scientific Center of Biomedical
Technologies of the Federal Medical and Biological
Agency of Russia;

e-mail: m-sklad@yandex.ru

Ларюшина Надежда Александровна, 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



ГОРМОНАЛЬНЫЙ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СТАТУС У САМЦОВ КРЫС С МОДЕЛЬЮ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА, ВЫЗВАННОЙ ПРЕРЫВАНИЕМ ГРУДНОГО ВСКАРМЛИВАНИЯ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

А.О. Шпаков*, В.М. Бондарева, К.В. Деркач

*ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223, Российская Федерация, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44*

Ограничение грудного вскармливания в раннем онтогенезе может стать причиной метаболического синдрома (МС) во взрослом возрасте. Так, непродолжительное лишение крысят грудного вскармливания в раннем постнатальном периоде приводит к МС в возрасте 4–6 мес. Однако эта модель МС требует оптимизации и детального изучения метаболических и гормональных показателей у взрослых животных. Цель работы состояла в изучении этих показателей у взрослых самцов крыс, лишённых грудного молока в возрасте 19–21 дней, что достигалось обработкой лактирующих самок бромокриптином. Взрослые самцы крыс имели повышенную массу тела и жировой ткани, нарушенную толерантность к глюкозе, инсулиновую резистентность, гиперлептемию. У них были снижены уровни тестостерона, свободного тироксина и общего трийодтиронина при повышении уровня тиреотропного гормона. Тем самым, краткосрочное ограничение грудного вскармливания приводит у взрослых крыс к развитию МС и нарушению эндокринной регуляции.

Ключевые слова: метаболический синдром, грудное вскармливание, инсулиновая резистентность, андрогенный дефицит, тиреоидная система

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: грант на осуществление государственной поддержки НЦМУ «Павловский центр» (№ 075-15-2020-916).

Для цитирования: Шпаков А.О., Бондарева В.М., Деркач К.В. Гормональный и метаболический статус у самцов крыс с моделью метаболического синдрома, вызванной прерыванием грудного вскармливания в раннем постнатальном периоде. *Биомедицина*. 2022;18(3):67–71. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-67-71>

Поступила 01.04.2022

Принята после доработки 13.04.2022

Опубликована 10.09.2022

HORMONAL AND METABOLIC STATUS OF MALE RATS WITH METABOLIC SYNDROME MODEL INDUCED BY INTERRUPTION OF BREASTFEEDING IN THE EARLY POSTNATAL PERIOD

Alexander O. Shpakov*, Vera M. Bondareva, Kira V. Derkach

*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences
194223, Russian Federation, St.-Petersburg, Thoreza Ave., 44*

Restriction of breastfeeding in the early ontogenesis can cause metabolic syndrome (MS) in adulthood. A short-term deprivation of rat pups from breastfeeding in the early postnatal period leads to MS at the age of 4–6 months. However, this neonatal MS model requires optimization and a detailed study into the metabolic and hormonal parameters of adult animals. The aim of the work was to study these parameters

in adult male rats deprived of breast milk at the age of 19–21 days, which was achieved by treating lactating females with bromocriptine. Adult male rats showed an increased body weight and adipose tissue, impaired glucose tolerance, insulin resistance, and hyperleptinemia. These animals had reduced levels of testosterone, free thyroxine, and total triiodothyronine, with an increase in the thyroid-stimulating hormone. Thus, a short-term deprivation of breastfeeding in adult rats leads to the development of MS and endocrine dysregulations.

Keywords: metabolic syndrome, breastfeeding, insulin resistance, androgen deficiency, thyroid system

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

Funding: grant for the implementation of state support to the NCWS “Pavlov Center” (No. 075-15-2020-916).

For citation: Shpakov A.O., Bondareva V.M., Derkach K.V. Hormonal and Metabolic Status of Male Rats with Metabolic Syndrome Model Induced by Interruption of Breastfeeding in the Early Postnatal Period. *Journal Biomed.* 2022;18(3):67–71. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-67-71>

Submitted 01.04.2022

Revised 13.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Широкое распространение метаболического синдрома (МС) обусловлено множеством факторов, среди которых несбалансированная диета, малоподвижный образ жизни, вредные привычки. Однако немалую роль в его эпидемиологии может играть ограничение или отсутствие грудного вскармливания в раннем онтогенезе [3, 4]. Возникающие при этом функциональные и метаболические нарушения в дальнейшем могут привести к ожирению, МС и сахарному диабету. Для изучения вклада этих нарушений в этиологию и патогенез МС, а также для разработки подходов, способных предотвратить или смягчить развитие запрограммированного в раннем онтогенезе МС, необходимы релевантные модели этого заболевания на животных. Одной из таких моделей является индукция МС у потомства вследствие подавления лактации у кормящих самок крыс [2]. Несмотря на значительный прогресс, достигнутый при разработке этой модели, она требует дальнейшей оптимизации и более детального изучения нарушений метаболических и гормональных показателей у взрослых животных, вызванных ограничением грудного вскармливания [3, 4].

Цель работы состояла в изучении толерантности к глюкозе, уровней инсулина, лептина, лютеинизирующего (ЛГ) и тиреотропного гормонов (ТТГ), тестостерона, тиреоидных гормонов и показателей липидного обмена у взрослых самцов крыс, лишённых грудного вскармливания в раннем постнатальном периоде (19–21-е дни) путём обработки кормящих самок D2-агонистом бромокриптином, ингибирующим лактацию.

Материалы и методы

Для исследований использовали крыс Wistar, которых содержали в стандартных условиях вивария и на стандартном рационе. Все процедуры по уходу и использованию животных осуществляли в соответствии с требованиями Этического комитета ИЭФБ РАН, European Communities Council Directive 1986 (86/609/EEC) и «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». Запрограммированный в раннем онтогенезе МС вызывали прекращением грудного вскармливания крысят в течение 19–21 дней после рождения, для чего лактирующим самкам в эти дни ежедневно перорально давали по 1 мг бромокриптин-мезилата. На 22-й день крысят отнимали от самок и переводили на сухой корм. Крысята, рождённые в те

же сроки, но от самок с нормальной лактацией, служили контролем. Предварительный мониторинг массы тела, уровней глюкозы и инсулина и толерантности к глюкозе у самцов крыс контрольной и МС групп (в каждой $n=12$) проводили через 6 мес. Через 10 мес. проводили изучение широкого спектра метаболических и гормональных показателей. Толерантность к глюкозе оценивали в глюкозотолерантном тесте (ГТТ), для чего крысам вводили глюкозу (2 г/кг в/б), отбирая кровь до и через 15, 30, 60 и 120 мин после глюкозной нагрузки и определяя в ней уровни глюкозы. Уровни инсулина и лептина определяли до и через 120 мин. Образцы крови забирали из хвостовой вены под местным наркозом (2–4 мг лидокаина/кг). Через 5 дней после ГТТ забирали кровь для оценки уровней ТТГ, тиреоидных гормонов и липидов, и еще через 3 дня оценивали уровни ЛГ и тестостерона, причём тестостерон измеряли в течение 5 ч — в 10^{00} , 11^{00} , 13^{00} и 15^{00} , рассчитывая значение $AUC_{10^{00}-15^{00}}$ (площадь под кривой «концентрация тестостерона, нМ – время, ч»), как описано ранее [1]. Для определения уровней триглицеридов и общего холестерина использовали тест-полоски «Triglycerides multiCare-in» и «Cholesterol multiCare-in» («Biochemical Systems Int.», Италия). Уровни инсулина, лептина, ЛГ и ТТГ измеряли с помощью наборов «Rat Insulin ELISA» («Mercodia», Швеция), «ELISA for Leptin, Rat», «ELISA for LH, Rat» («Cloud-Clone Corp.», США) и «ELISA for TSH, Rat» («Cusabio Biotech Co., Ltd.», Китай). Уровни тестостерона, свободного (fT4) и общего тироксина (tT4), свободного (fT3) и общего трийодтиронина (tT3) определяли с помощью наборов фирмы «Иммунотех» (Россия).

Статистический анализ осуществляли с помощью программы «Microsoft Office Excel 2007» (Microsoft Corp., США), результаты представляли как $M \pm SEM$. Для сравнения двух выборок с нормальным распределением, которое оценивали с помощью

критерия Шапиро–Уилка, использовали t -критерий Стьюдента, достоверными считали различия при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Мониторинг массы тела показал, что в возрасте 6 мес. самцы крыс группы МС имели небольшое, но значимое увеличение массы тела и повышенный индекс инсулиновой резистентности (ИР), оцениваемый как произведение концентраций инсулина и глюкозы натощак (данные не представлены). Через 10 мес. в группе МС отмечали нарастание метаболических расстройств, на что указывает повышение в сравнении с контролем массы тела и абдоминального жира, концентрации общего холестерина, триглицеридов, уровней глюкозы, инсулина и лептина через 120 мин после глюкозной нагрузки (в случае лептина также его базального уровня), индекса ИР и значения AUC для глюкозной кривой в ГТТ (табл.), что свидетельствует о развитии у самцов крыс характерных для МС ожирения, нарушенной толерантности к глюкозе, ИР и дислипидемии. Наши результаты согласуются с данными других авторов, которые, используя различные модели, показали, что подавление лактации у кормящих самок и временное лишение или ограничение грудного вскармливания у детёнышей в раннем постнатальном периоде приводит к МС-подобным состояниям во взрослом возрасте [2–4].

Изучение гормонального статуса у крыс МС-группы показало, что уровни тестостерона, оцениваемые по значениям AUC (интегрированной площади под концентрационной кривой этого гормона в течение 5 ч), снижались в сравнении с контролем. Концентрация ЛГ в группе МС, хотя и имела тенденцию к снижению, но существенно не отличалась от контроля (табл.). Это указывает на развитие умеренного андрогенного дефицита у взрослых самцов крыс

Таблица. Метаболические и гормональные показатели у 10-месячных самцов крыс с МС, вызванным лишением их грудного вскармливания в 19–21-е дни после рождения, $M \pm SEM$, $n=12$

Table. Metabolic and hormonal parameters in 10-month-old male rats with MS caused by deprivation of their breastfeeding at 19–21 days after birth, $M \pm SEM$, $n=12$

Показатель	Контроль	МС
Масса тела, г	398±9	465±13*
Масса абдоминального жира, г	4,78±0,18	6,50±0,28*
Триглицериды, мМ	1,93±0,16	2,73±0,22*
Общий холестерин, мМ	4,24±0,15	5,73±0,24*
Глюкоза натощак, мМ	3,77±0,13	4,38±0,29
Глюкоза через 120 мин (ГГТ), мМ	4,38±0,17	5,46±0,35*
Инсулин натощак, нг/мл	0,50±0,04	0,63±0,07
Инсулин через 120 мин (ГГТ), нг/мл	0,69±0,08	1,43±0,20*
Лептин натощак, нг/мл	1,02±0,13	1,94±0,27*
Лептин через 120 мин (ГГТ), нг/мл	1,25±0,15	2,66±0,38*
Индекс ИР, усл. ед.	1,85±0,14	2,69±0,34*
Глюкоза, AUC _{0–120} , усл. ед.	965±53	1353±93*
Тестостерон, AUC _{10.00–15.00} , усл. ед.	74,9±5,0	55,8±5,1*
fT4, пМ	27,7±0,8	24,2±0,8*
tT4, нМ	91,7±2,3	83,5±3,2
fT3, пМ	3,77±0,11	3,32±0,19
tT3, нМ	2,83±0,08	2,33±0,09*
ЛГ, нг/мл	1,82±0,16	1,55±0,14
ТТГ, мкЕД/мл	0,51±0,10	0,91±0,15*

Примечание: * — различия между «МС» и «Контроль» значимы при $p < 0,05$.

Note: * — differences between “MS” and “Control” are significant at $p < 0.05$.

с запрограммированным в раннем онтогенезе МС. В МС-группе снижались уровни fT4 и tT3 и повышалась концентрация ТТГ (табл.), что свидетельствует о нарушении выработки тиреоидных гормонов щитовидной железой. Это может происходить либо вследствие развития резистентности к ТТГ, либо в результате снижения функциональной активности ферментов, ответственных за синтез тиреоидных гормонов. В пользу ТТГ-резистентности свидетельствуют данные о повышении в два раза соотношения ТТГ/fT4 в группе МС в сравнении с контролем.

Выводы

Лишение самцов крыс в ранний постнатальный период (19–21-е дни) грудного вскармливания по достижении ими возраста 10 мес. не только приводит к метаболическим расстройствам, характерным для МС, но и влияет на гормональный статус эндокринной системы, снижая уровни тестостерона и тиреоидных гормонов (fT4 и tT3) и повышая уровень ТТГ. Предложенная модель может быть использована для изучения этиологии и патогенеза МС, а также при разработке подходов для его фармакологической коррекции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Derkach K.V., Bakhtuykov A.A., Romanova I.V., Zorina I.I., Bayunova L.V., Bondareva V.M., Morina I.Yu., Kumar Roy V., Shpakov A.O. The effect of metformin treatment on the basal and gonadotropin-stimulated steroidogenesis in male rats with type 2 diabetes mellitus. *Andrologia*. 2020;52(11):e13816. DOI: 10.1111/and.13816.
2. Lima Nda S., de Moura E.G., Passos M.C., Nogueira Neto F.J., Reis A.M., de Oliveira E., Lisboa P.C. Early weaning causes undernutrition for a short period and programmes some metabolic syndrome components and leptin resistance in adult rat offspring. *Br. J. Nutr.* 2011;105(9):1405–1413. DOI: 10.1017/S0007114510005064.
3. Peixoto T.C., Pietrobon C.B., Bertasso I.M., Caramez F.A.H., Calvino C., Santos T.R., Oliveira E., Moura E.G., Lisboa P.C. Early weaning alters the thermogenic capacity of brown adipose tissue in adult male and female rats. *Eur. J. Nutr.* 2020;59(5):2207–2218. DOI: 10.1007/s00394-019-02071-9.
4. Pietrobon C.B., Bertasso I.M., Silva B.S., Peixoto-Silva N., Oliveira E., Moura E.G., Lisboa P.C. Body adiposity and endocrine profile of female Wistar rats of distinct ages that were early weaned. *Horm. Metab. Res.* 2020;52(1):58–66. DOI: 10.1055/a-0966-8784.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Шпаков Александр Олегович*, д.б.н., ФГБУН
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;
e-mail: alex_shpakov@list.ru

Alexander O. Shpakov*, Dr. Sci. (Biol.), Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of Russian Academy of Sciences;
e-mail: alex_shpakov@list.ru

Бондарева Вера Михайловна, к.б.н., ФГБУН
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;
e-mail: bondver@mail.ru

Vera M. Bondareva, Cand. Sci. (Biol.), Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of Russian Academy of Sciences;
e-mail: bondver@mail.ru

Деркач Кира Викторовна, к.б.н., ФГБУН
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;
e-mail: derkatch_k@list.ru

Kira V. Derkach, Cand. Sci. (Biol.), Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of Russian Academy of Sciences;
e-mail: derkatch_k@list.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ПРИМЕНЕНИЕ АЛЛОСТЕРИЧЕСКОГО АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЛУТЕИНИЗИРУЮЩЕГО ГОРМОНА ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОЙ ДОЗЫ ГОНАДОТРОПИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ АНДРОГЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ КРЫС С ДИАБЕТОМ ТИПА 1

А.А. Бахтюков^{1,*}, К.В. Деркач¹, В.Н. Сорокоумов^{1,2}, А.О. Шпаков¹

¹ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223, Российская Федерация, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»
198504, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Петергоф, Университетский просп., 26

При диабете 1-го типа синтез тестостерона в семенниках нарушается, что ведёт к андрогенной недостаточности. Длительное использование высоких доз гонадотропинов для её коррекции снижает чувствительность рецепторов лютеинизирующего гормона/хорионического гонадотропина человека (ЛГ/ХГЧ) в клетках Лейдига к эндогенным гонадотропинам. Целью работы было изучить влияние трёхдневной обработки самцов крыс Wistar со стрептозотоциновым диабетом 1-го типа с помощью аллостерического агониста рецептора ЛГ/ХГЧ 5-амино-*N*-мет-бутил-2-(метилсульфанил)-4-(3-(никотинамидо)фенил)тиено[2,3-*d*]пиримидин-6-карбоксамида (ТП03, 15 мг/кг/сут.) на стероидогенные эффекты ХГЧ, используемого в низкой дозе (10 МЕ/крысу, однократно, подкожно). Предобработка диабетических крыс с помощью ТП03 усиливала стимулирующий эффект ХГЧ на уровень тестостерона, слабо влияя на его эффекты на экспрессию генов стероидогенных белков (*Star*, *Cyp11a1*, *Cyp17a1*) и рецептора ЛГ/ХГЧ (*Lhr*). Таким образом, при диабете 1-го типа ТП03 повышает стероидогенный эффект низких доз ХГЧ, но не меняет его эффект на экспрессию генов рецептора ЛГ/ХГЧ и ферментов стероидогенеза в семенниках.

Ключевые слова: сахарный диабет 1-го типа, стероидогенез, аллостерический регулятор, рецептор лютеинизирующего гормона, гонадотропин

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (№ 19-75-20122).

Для цитирования: Бахтюков А.А., Деркач К.В., Сорокоумов В.Н., Шпаков А.О. Применение аллостерического агониста рецептора лютеинизирующего гормона для снижения эффективной дозы гонадотропина при лечении андрогенной недостаточности крыс с диабетом типа 1. *Биомедицина*. 2022;18(3):72–78. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-72-78>

Поступила 11.04.2022

Принята после доработки 18.04.2022

Опубликована 10.09.2022

APPLICATION OF AN ALLOSTERIC AGONIST OF THE LUTEINIZING HORMONE RECEPTOR FOR REDUCING THE EFFECTIVE DOSE OF GONADOTROPIN IN THE TREATMENT OF ANDROGEN DEFICIENCY IN RATS WITH TYPE 1 DIABETES

Andrey A. Bakhtuyukov^{1,*}, Kira V. Derkach¹, Viktor N. Sorokoumov^{1,2},
Alexander O. Shpakov¹

¹*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences
194223, Russian Federation, Saint Petersburg, Thoreza Ave., 44*

²*Saint Petersburg State University
198504, Russian Federation, Saint Petersburg, Peterhof, Universitetskiy Ave., 26*

In type 1 diabetes mellitus, the impaired testosterone synthesis in the testes leads to androgen deficiency. The long-term application of high gonadotropin doses for its correction decreases the sensitivity of luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin (LH/hCG) receptors in Leydig cells to the endogenous gonadotropins. The aim of this work was to study the effect of a 3-day treatment of male Wistar rats with streptozotocin type 1 diabetes with the 5-amino-*N*-*tert*-butyl-2-(methylsulfonyl)-4-(3-(nicotinamido)phenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide allosteric LH/hCG receptor agonist (TP03, 15 mg/kg/day) on steroidogenic effects of a relatively low-dose hCG (10 IU/rat, single dose, s.c.). Pretreatment of diabetic rats with TP03 enhanced the stimulatory effect of hCG on testosterone levels, slightly modifying its effects on the expression of steroidogenic proteins (*Star*, *Cyp11a1*, *Cyp17a1*) and LH/hCG receptor (*Lhr*) genes. Thus, in type 1 diabetes, TP03 increases the steroidogenic effect of low-dose hCG, at the same time as maintaining its effect on the gene expression of LH/hCG receptor and steroidogenesis enzymes in the testes.

Keywords: type 1 diabetes mellitus, steroidogenesis, allosteric regulator, luteinizing hormone receptor, gonadotropin

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

Funding: this work was supported by the Russian Science Foundation (No. 19-75-20122).

For citation: Bakhtuyukov A.A., Derkach K.V., Sorokoumov V.N., Shpakov A.O. Application of an Allosteric Agonist of the Luteinizing Hormone Receptor for Reducing the Effective Dose of Gonadotropin in the Treatment of Androgen Deficiency in Rats with Type 1 Diabetes. *Journal Biomed.* 2022;18(3): 72–78. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-72-78>

Submitted 11.04.2022

Revised 18.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Сахарный диабет 1-го типа (СД-1) приводит к нарушению метаболизма и многих физиологических функций, затрагивая почти все системы организма. Одним из направлений в клинической эндокринологии является изучение андрогенной недостаточности у мужчин-пациентов с СД-1. Мощными триггерами нарушений репродуктивной функции являются гипергликемия, инсулиновый дефицит и воспалительные процессы [4]. В условиях СД-1 снижается

синтез тестостерона тестикулярными клетками Лейдига и нарушается сперматогенез, что ведёт к бесплодию [5]. У крыс с СД-1 снижается экспрессия и количество белка StAR (Steroidogenic acute regulatory protein, ген *Star*), ответственного за транспорт холестерина в митохондрии, где осуществляется первые стадии тестикулярного стероидогенеза. При СД-1 в семенниках также снижаются экспрессия и активность цитохрома P450_{ssc}, катализирующего превращение холестерина в прегненолон (ген *Cyp11a1*),

и цитохрома P450c17, превращающего прогестерон в 17-ОН-прогестерон и далее в андростендион (ген *Cyp17a1*), что приводит к дефициту тестостерона [8].

Длительное применение высоких доз препаратов хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) и лютеинизирующего гормона (ЛГ) снижает чувствительность клеток Лейдига к эндогенному ЛГ, следствием чего является снижение продукции тестостерона после окончания лечения [7]. Альтернативой гонадотропинам являются аллостерические агонисты рецептора ЛГ/ХГЧ на основе тиено[2,3-*d*]-пиримидина, взаимодействующие с аллостерическим сайтом, локализованным в трансмембранном домене рецептора [6]. Нами ранее была разработана серия производных тиено[2,3-*d*]-пиримидина, в т.ч. наиболее активные из них — ТП03 и ТП04, которые с высокой эффективностью стимулировали стероидогенез при различных способах введения [3]. В отличие от ХГЧ, они не снижали ответ клеток Лейдига на эндогенный ЛГ [1, 2]. Показано также, что ТП03 и ТП04 стимулировали продукцию тестостерона у самцов крыс со стрептозотоциновым диабетом [1, 2]. Мы предположили, что предобработка крыс этими соединениями будет усиливать действие ХГЧ, снижая его эффективную дозу в условиях патологических изменений в семенниках, вызванных СД-1.

Целью работы было изучить эффект трёхдневной предобработки самцов крыс с СД-1 5-амино-*N*-трет-бутил-2-(метилсульфанил)-4-(3-(никотинамидо)фенил)тиено[2,3-*d*]пиримидин-6-карбоксамидом (ТП03) на стероидогенные эффекты взятого в низкой дозе, однократно вводимого ХГЧ, а также на экспрессию гена рецептора ЛГ/ХГЧ.

Материалы и методы

Для экспериментов использовали трёхмесячных самцов крыс Wistar, которые

содержались в стандартных условиях вивария ИЭФБ РАН со свободным доступом к воде и корму. Все процедуры осуществляли в строгом соответствии с требованиями комитета по биоэтике ИЭФБ РАН, «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» и European Communities Council Directive 1986 (86/609/ЕЕС).

СД-1 вызывали инъекцией стрептозотоцина (СТЗ) в дозе 45 мг/кг (в/б, в 0,1 М цитратном буфере, pH=4,5) самцам крыс. Контрольные крысы получали цитратный буфер без СТЗ. Эффективность развития СД-1 оценивали через 10 дней по уровню глюкозы в крови через 2 ч после потребления стандартной кормовой смеси, отбирая животных с уровнем глюкозы выше 15 мМ. Спустя 30 дней после индукции СД-1 крыс распределили на группы (в каждой n=5): «Контроль», «СД-1», «СД-1+ТП03-1Д», «СД-1+ТП03-3Д», «СД-1+ХГЧ-1Д» и «СД-1+ТП03-3Д+ХГЧ». Соединение ТП03 синтезировали, как описано ранее, растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) и вводили в дозе 15 мг/кг/сут. в/б однократно или в течение 3 сут. [1, 3]. ХГЧ («Московский эндокринный завод», Россия) растворяли в физ. р-ре и вводили однократно в дозе 10 МЕ/крысу (п/к) на 3-й день за 3 ч до выведения животных из эксперимента. Крысы групп «Контроль» и «СД-1» получали ДМСО (в/б). Дозы препаратов ТП03 и ХГЧ были выбраны на основе результатов предварительных экспериментов. Образцы плазмы получали через 1, 3 и 5 ч после однократного введения ТП03 или ДМСО. На 3-й день введения ТП03 или ДМСО образцы плазмы получали перед 3-й инъекцией препаратов и через 2 и 3,5 ч после их введения (или 1,5 и 3 ч после обработки ХГЧ). Образцы тканей семенников забирали после декапитации животных через 3,5 ч после введения ТП03 или ДМСО (или 3 ч после введения ХГЧ). Уровень тестостерона определяли с помощью ИФА-наборов («ИФА-Тестостерон», «Алкор-Био», Россия). Для анализа экс-

Таблица 1. Уровни тестостерона в крови крыс с СД-1 при обработке агонистом рецептора ЛГ/ХГЧ
Table 1. Testosterone levels in the blood of rats with DM1 after treatment with LH/hCG receptor agonist

А. Однократное введение СД-1-самцам крыс аллостерического агониста ТПО3				
Группа/время (ч)	0	1	3	5
Контроль	13,59±2,82	17,34±5,11	13,50±2,69	13,45±2,86
СД-1	5,72±2,24 ^a	6,67±3,93 ^a	5,75±2,75 ^a	6,81±3,14 ^a
СД-1+ТПО3-1Д	5,94±1,24 ^a	15,91±7,30	20,59±6,24 ^b	13,37±5,19 ^b
Б. Трёхдневная обработка СД-1-крыс ТПО3 в сочетании с однократно вводимым ХГЧ				
Группа/время (ч)	0	2	3,5	
Контроль	13,04±2,72	14,28±2,60	11,74±3,76	
СД-1	6,22±2,78	4,04±1,13	4,59±2,11	
СД-1+ТПО3-3Д	9,98±2,17	18,11±7,60	21,39±10,14	
СД-1+ХГЧ-1Д	6,85±3,58 ^a	16,51±10,17	41,89±17,56 ^{a,b}	
СД-1+ТПО3-3Д+ХГЧ	6,46±2,77 ^a	41,63±12,34 ^{a,b,c,d}	52,56±14,74 ^{a,b,c}	

Примечания: *a* – отличия от группы «Контроль», *b* – от группы «СД-1», *c* – от группы «СД-1+ТПО3-3Д», *d* – от группы «СД-1+ХГЧ-1Д» статистически значимы при $p < 0,05$; $M \pm SD$; $n = 5$.

Notes: *a* – differences from the “Control”, *b* – from the “DM1”, *c* – from the “DM1+TP03-3D”, and *d* – from the “DM1+hCG-1D” are significant at $p < 0.05$; $M \pm SD$; $n = 5$.

прессии генов из семенников выделяли тотальную РНК с помощью «ExtractRNA» («Евроген», Россия), затем получали кДНК с помощью реакции обратной транскрипции («MMLV RT Kit», «Евроген», Россия). ПЦР в реальном времени осуществляли с помощью амплификатора «Applied Biosystems® 7500 Real-Time PCR System» («Life Technologies, Thermo Fisher Scientific Inc.», США) и реагента «qPCR-HS SYBR+Low ROX» («Евроген», Россия). В работе использовали ранее описанные последовательности праймеров для генов крысы *Lhr*, *Star*, *Cyp11a1* и *Cyp17a1*, а также гена *Actb*, используемого как референсный [1, 2]. Статистическую обработку данных проводили с помощью дисперсионного анализа, используя пакет программ SPSS (версия 23.0.0.0), с апостериорным критерием Тьюки. Данные представлены как $M \pm SD$, $n = 5$.

Результаты и их обсуждение

У крыс с СД-1 уровень глюкозы в крови был значительно повышен через 2 ч после потребления пищи («СД-1» — $21,2 \pm 3,9$ мМ, «Контроль» — $6,3 \pm 0,4$ мМ, $p < 0,05$), а масса тела снижена («СД-1» — 241 ± 20 г, «Контроль»

— 327 ± 18 г, $p < 0,05$). У самцов крыс с СД-1 был снижен уровень тестостерона в крови — до $38,4\text{--}42,6\%$ от такового в контроле, что указывает на развитие у них андрогенной недостаточности (табл. 1А). Однократная инъекция ТПО3 через 3 ч повышала уровень тестостерона на 258% (табл. 1А).

В семенниках СД-1-крыс экспрессия генов *Star*, *Cyp11a1* и *Cyp17a1*, кодирующих белок StAR и цитохромы P450_{scc} и P450_{c17}, была снижена до $31,6\%$, $35,3\%$ и $34,7\%$ от её уровня в контроле (табл. 2), что согласуется с данными других авторов об ослаблении тестикулярного стероидогенеза при СД-1 [8]. Однократная инъекция ТПО3 повышала экспрессию генов *Lhr* и *Star* выше её уровня в контроле (табл. 1А).

Далее изучали влияние трёхдневной предобработки СД-1-крыс с помощью ТПО3 на эффекты однократно вводимого ХГЧ в относительно низкой дозе. На 3-й день сравнивали эффекты ТПО3 (15 мг/кг/сут., 3 дня) и ХГЧ (10 МЕ/крысу, однократно). Трёхдневная обработка СД-1-крыс с помощью ТПО3 повышала уровень тестостерона на 366% . При этом однократная инъекция ХГЧ повышала его на 812% , что свидетельствует об ожидаемой

Таблица 2. Экспрессия генов *Lhr*, *Star*, *Cyp11a1* и *Cyp17a1* в семенниках самцов крыс с СД-1 при однократном введении им ТПО3 или ХГЧ, а также в условиях трёхдневной обработки ТПО3, в т. ч. в сочетании с однократно вводимым ХГЧ

Table 2. Expression of *Lhr*, *Star*, *Cyp11a1* and *Cyp17a1* genes in the testes of male rats with DM1 after a single injection of TP03 or hCG, as well as under the conditions of a 3-day treatment with TP03, including combined with a single dose of hCG

Группа	<i>Lhr</i>	<i>Star</i>	<i>Cyp11a1</i>	<i>Cyp17a1</i>
Контроль	1,02±0,18	1,01±0,20	1,02±0,22	1,01±0,15
СД-1	1,03±0,10	0,32±0,07 ^a	0,36±0,11 ^a	0,35±0,08 ^a
СД-1+ТПО3-1Д	1,86±0,16 ^{a,b}	1,93±0,31 ^{a,b}	0,97±0,10 ^b	1,48±0,20 ^b
СД-1+ХГЧ-1Д	1,84±0,42 ^{a,b}	1,96±0,43 ^{a,b}	1,86±0,32 ^{a,b}	2,31±0,45 ^{a,b}
СД-1+ТПО3-3Д	1,44±0,25	1,20±0,13 ^b	0,90±0,09 ^b	1,00±0,16 ^b
СД-1+ТПО3-3Д+ХГЧ	1,46±0,37	1,86±0,45 ^{a,b,c}	1,65±0,31 ^{a,b,c}	1,19±0,20 ^{b,d}

Примечания: *a* – отличия от группы «Контроль», *b* – от группы «СД-1», *c* – от группы «СД-1+ТПО3-3Д», *d* – от группы «СД-1+ХГЧ-1Д» статистически значимы при $p < 0,05$; $M \pm SD$; $n = 5$.

Notes: *a* – differences from the “Control”, *b* – from the “DM1”, *c* – from the “DM1+TP03-3D”, and *d* – from the “DM1+hCG-1D” are significant at $p < 0.05$; $M \pm SD$; $n = 5$.

более высокой эффективности гонадотропина, взаимодействующего с высокоаффинным ортостерическим сайтом рецептора ЛГ/ХГЧ. Предобработка ТПО3 достоверно усиливала эффект ХГЧ, который через 1,5 ч после введения гонадотропина был на 152% выше такового в группе «СД-1+ХГЧ-1Д» и на 130% выше такового в группе «СД-1+ТПО3-3Д» (табл. 1Б). Выявленный потенцирующий эффект ТПО3 может быть обусловлен частичной аддитивностью эффектов аллостерического (ТПО3) и ортостерического (ХГЧ) агонистов, которые взаимодействуют с перекрывающимися сайтами в молекуле рецептора ЛГ/ХГЧ и не конкурируют между собой. Следует отметить, что через 3 ч после введения ХГЧ в группе «СД-1+ТПО3-3Д+ХГЧ» сохранялась тенденция к усилению стероидогенного эффекта ХГЧ, но различия с группой без предобработки ТПО3 уже не были значимыми.

Изучение генной экспрессии в семенниках СД-1-крыс показало, что однократные инъекции ХГЧ в значительной степени повышали экспрессию генов *Star*, *Cyp11a1*, *Cyp17a1* и *Lhr* (табл. 2). Трёхдневное введение ТПО3 повышало экспрессию *Star*, *Cyp11a1* и *Cyp17a1*. Стимулирующий эффект ХГЧ на СД-1-крыс с предобработкой ТПО3

на экспрессию *Star* и *Cyp11a1*, был сопоставим с таковым при введении ХГЧ крысам без такой предобработки, в то время как экспрессия гена *Cyp17a1* в группе «СД-1+ТПО3-3Д+ХГЧ» была ослаблена. Снижение экспрессии *Cyp17a1* может быть связано с ингибирующим влиянием на неё высоких уровней андрогенов в семенниках, достигаемых в результате совместного воздействия ХГЧ и ТПО3. Существенных различий экспрессии гена рецептора ЛГ/ХГЧ между группами «СД-1+ХГЧ-1Д» и «СД-1+ТПО3-3Д+ХГЧ» выявлено не было (табл. 2).

Выводы

Трёхдневная предобработка с помощью ТПО3, аллостерического агониста рецептора ЛГ/ХГЧ, усиливает эффект однократно введённого ХГЧ, взятого в относительно низкой дозе 10 МЕ/крысу, на тестикулярный стероидогенез у СД-1-крыс с выраженным андрогенным дефицитом. На основе этого имеются основания полагать, что аллостерические агонисты рецептора ЛГ/ХГЧ способны не только сами стимулировать тестикулярный стероидогенез, но и повышать эффективность стероидогенного ответа гонадотропинов, что позволяет снизить их фармакологические дозы, в т. ч. при СД-1.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Bakhtyukov A.A., Derkach K.V., Dar'in D.V., Stepochkina A.M., Shpakov A.O. A low molecular weight agonist of the luteinizing hormone receptor stimulates adenylyl cyclase in the testicular membranes and steroidogenesis in the testes of rats with type 1 diabetes. *Biochemistry (Mosc). Suppl. Ser. A: Membr. Cell Biol.* 2019;13(4):301–309. DOI: 10.1134/S1990747819040032.
2. Bakhtyukov A.A., Derkach K.V., Gureev M.A., Dar'in D.V., Sorokoumov V.N., Romanova I.V., Morina I.Y., Stepochkina A.M., Shpakov A.O. Comparative study of the steroidogenic effects of human chorionic gonadotropin and thieno[2,3-D]pyrimidine-based allosteric agonist of luteinizing hormone receptor in young adult, aging and diabetic male rats. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(20):7493. DOI: 10.3390/ijms21207493.
3. Derkach K.V., Dar'in D.V., Bakhtyukov A.A., Lobanov P.S., Shpakov A.O. In vitro and in vivo studies of functional activity of new low molecular weight agonists of the luteinizing hormone receptor. *Biochemistry (Mosc). Suppl. Ser. A: Membr. Cell Biol.* 2016;10(4):294–300. DOI: 10.1134/S1990747816030132.
4. Maresch C.C., Stute D.C., Alves M.G., Oliveira P.F., de Kretser D.M., Linn T. Diabetes-induced hyperglycemia impairs male reproductive function: A systematic review. *Hum. Reprod. Update.* 2018;24(1):86–105. DOI: 10.1093/humupd/dmx033.
5. Rato L., Alves M.G., Duarte A.I., Santos M.S., Moreira P.I., Cavaco J.E., Oliveira P.F. Testosterone deficiency induced by progressive stages of diabetes mellitus impairs glucose metabolism and favors glycogenesis in mature rat Sertoli cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2015;66:1–10. DOI: 10.1016/j.biocel.2015.07.001.
6. van Koppen C.J., Zaman G.J., Timmers C.M., Kelder J., Mosselman S., van de Lagemaat R., Smit M.J., Hanssen R.G. A signaling-selective, nanomolar potent allosteric low molecular weight agonist for the human luteinizing hormone receptor. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2008; 378(5):503–514. DOI: 10.1007/s00210-008-0318-3.
7. Veldhuis J.D., Liu P.Y., Takahashi P.Y., Keenan D.M. Dynamic testosterone responses to near-physiological LH pulses are determined by the time pattern of prior intravenous LH infusion. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2012;303:720–728. DOI: 10.1152/ajpendo.00200.2012.
8. Wagner I.V., Klötting N., Savchuk I., Eifer L., Kulle A., Kralisch-Jäcklein S., Dötsch J., Hiort O., Svechnikov K., Söder O. Diabetes type 1 negatively influences Leydig cell function in rats, which is partially reversible by insulin treatment. *Endocrinology.* 2021;162(4):bqab017. DOI: 10.1210/endo/bqab017.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Бахтыков Андрей Андреевич*, к.б.н., ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук;
e-mail: bahtyukov@gmail.com

Деркач Кира Викторовна, к.б.н., ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук;
e-mail: derkach_k@list.ru

Сорокоумов Виктор Николаевич, к.х.н., ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»;
e-mail: sorokoumov@gmail.com

Andrey A. Bakhtyukov*, Cand. Sci. (Biol.), Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: bahtyukov@gmail.com

Kira V. Derkach, Cand. Sci. (Biol.), Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: derkach_k@list.ru

Viktor N. Sorokoumov, Cand. Sci. (Chem.), Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg State University;
e-mail: sorokoumov@gmail.com

Шпаков Александр Олегович, д.б.н., ФГБУН
Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И.М. Сеченова Российской академии наук;

e-mail: alex_shpakov@list.ru

Alexander O. Shpakov, Dr. Sci. (Biol.), Sechenov
Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry
of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: alex_shpakov@list.ru

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-79-83>



БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФУЛЬВОВОЙ КИСЛОТЫ: ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ

Н.С. Бендерский, А.В. Сафроненко, О.М. Куделина*, Е.В. Ганцгорн, А.В. Криштопа,
А.О. Голубева, С.Э. Бабюк

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

В последнее время не только в России, но и за рубежом возрос интерес к группе природных органических соединений, называемых гуминовыми веществами. Они обладают достаточно обширным спектром биологических свойств и с успехом применяются в животноводстве, сельском хозяйстве и ветеринарии. Одним из ярких представителей данного класса веществ является фульвовая кислота. Её химические и биологические свойства представляют особый интерес с точки зрения традиционной медицины, а использование в качестве основы лекарственных средств является весьма перспективным направлением современной фармакологии.

Ключевые слова: фульвовая кислота, гумусовые кислоты, антиоксидантные свойства, противовоспалительные свойства, антиаллергические свойства

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Бендерский Н.С., Сафроненко А.В., Куделина О.М., Ганцгорн Е.В., Криштопа А.В., Голубева А.О., Бабюк С.Э. Биологическая активность фульвовой кислоты: перспективы применения в медицине. *Биомедицина*. 2022;18(3):79–83. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-79-83>

Поступила 05.04.2022

Принята после доработки 20.04.2022

Опубликована 10.09.2022

BIOLOGICAL ACTIVITY OF FULVIC ACID: PROSPECTS OF APPLICATION IN MEDICINE

Nikita S. Benderskiy, Andrey V. Safronenko, Oksana M. Kudelina*, Elena V. Gantsgorn,
Anna V. Krishtopa, Anna O. Golubeva, Svetlana E. Babyuk

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

The group of natural organic compounds referred to as humic substances are increasingly attracting attention both in Russia and globally. These compounds exhibit a fairly extensive range of biological properties, thus finding successful application in animal husbandry, agriculture and veterinary medicine. Fulvic acid represents one of the most prominent representatives of this group of substances. The chemical and biological properties of fulvic acid make it a promising candidate for application in traditional medicine and as a basis for the development of modern pharmacological preparations.

Keywords: fulvic acid, humic acids, antioxidant properties, anti-inflammatory properties, anti-allergic properties

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

For citation: Benderskiy N.S., Safronenko A.V., Kudelina O.M., Gantsgorn E.V., Krishtopa A.V., Golubeva A.O., Babyuk S.E. Biological Activity of Fulvic Acid: Prospects of Application in Medicine. *Journal Biomed*. 2022;18(3):79–83. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-79-83>

Submitted 05.04.2022
Revised 20.04.2022
Published 10.09.2022

Введение

Фульвовые кислоты (ФК) относятся к классу органических соединений, называемых гуминовыми веществами, которые образуются при разложении растительных и животных останков в процессе физической, химической и микробиологической трансформации (гумификации) [1]. ФК представляют собой высокомолекулярные азотсодержащие органические соединения кислотной природы, состоящие из конденсированного ароматического ядра и боковых цепей, содержащих фенольные и спиртовые гидроксиды, карбоксильные и метаксильные группы, СН-ароматические, CH_2 -, CH_3 -алифатические, а также свободные радикалы и аминоксипы [2, 7]. Реакционная активность ФК зависит от состава реагирующих сред (раствор, рН) и во многом определяется поверхностно-активными и электроповерхностными свойствами, сильно влияющие на которые оказывает содержание активных функциональных групп, макромолекулярная структура и концентрация.

Изучение химико-фармакологических свойств природных ФК является одним из перспективных направлений современной фармакологии. На сегодняшний день накоплена большая информативная база, позволяющая сделать определённые выводы относительно применения ФК в медицинской практике, но говорить о ней как о лекарственном веществе преждевременно. В мировой практике ФК используется на условиях эксперимента, где вещество (*in vitro* и *in vivo*) добавляется к официальной базовой терапии.

В данном обзоре обобщается информация об известных фармакологических эффектах ФК и возможных перспективах её использования в медицине.

Противовоспалительные и противоаллергические свойства

Исследования таких заболеваний, как экзема и бронхиальная астма, наряду с другими патологиями, могут быть связаны с гиперреактивностью клеток иммунной системы [4]. В этом случае основой фармакотерапии является назначение противовоспалительных лекарственных средств (ЛС), которые имеют решающее значение в лечении пациента, уменьшая симптоматику и улучшая общее состояние больного.

Ряд исследований свидетельствует о том, что ФК может действовать как противовоспалительное средство, уменьшая высвобождение провоспалительных медиаторов из клетки.

Авторы работы [3] пришли к выводу, что ФК достоверно снижает индуцированную гомоцистеином секрецию циклооксигеназы-2 и простагландина E_2 в первичных моноцитах человека. Также отмечается, что ФК способна снижать высвобождение В-гексосаминидазы и гистамина в иммуноглобулин-Е-сенситизированных тучных клетках и клетках базофилов [10].

В исследовании [6] было отмечено, что при пероральном применении ФК в дозе 100 мг/кг она значительно уменьшала площадь воспалительного очага, индуцированного каррагинаном, не уступая по эффективности нестероидным противовоспалительным ЛС.

Эффективность ФК в качестве противовоспалительного средства подтверждается и исследованием [11], в котором оценивали её влияние на заживление раневых поверхностей, инфицированных метициллин-резистентным золотистым стафилококком и синегнойной палочкой. Результаты показали, что спустя три дня после заражения повышенная регуляция интерлейкина-6

(II-6) была значительно ослаблена, а на 6-й и 10-й дни на обеих моделях, которые были обработаны ФК, отмечалось значительное ускоренное регенерации тканей и процессов заживления, соответственно. Учитывая полученные результаты, можно предположить, что ФК оказывает бимодальный эффект, заключающийся в подавлении и стимуляции отдельных звеньев иммунной системы.

Таким образом, результаты проведённых исследований подтверждают, что ФК может быть использована не только для профилактики и лечения аллергических заболеваний, но и в качестве базисной терапии воспаления.

Антиоксидантные свойства

Известно, что процессы свободнорадикального окисления находятся под строгим контролем многокомпонентной антиоксидантной системы организма. Однако в условиях патологии при избыточной генерации активных форм кислорода (АФК) процесс приобретает каскадный характер, что, в свою очередь, может привести к изменению структурного состояния мембраны, разобщению процессов окислительного фосфорилирования и сопряжённого с ним тканевого дыхания и, как следствие, к тяжёлому дисбалансу клеточного метаболизма.

Вышеописанные процессы обуславливают активный поиск ЛС, которые будут направлены на оптимизацию нарушенных окислительно-восстановительных реакций и коррекцию свободнорадикального статуса организма. С этой целью широко используются синтетические антиоксидантные препараты (мексидол, пробукол и др.), применение которых ограничено рядом противопоказаний. Вместе с тем далеко не полностью исчерпаны возможности по разработке и внедрению в фармацевтическую практику ЛС на основе природных соединений. ФК, являясь природным антиоксидантом, способна нейтрализовать

свободные радикалы, а также принимает участие в окислительно-восстановительных реакциях с переходными металлами. Она способна изолировать супероксидные радикалы и другие АФК за пределами клетки, а также расцеплять цепи переноса электронов в митохондриях [5, 9].

Вышеописанные эффекты нашли подтверждение в исследовании [8], в котором оценивались кардиопротективные и антиоксидантные свойства ФК на модели кардиотоксичности, индуцированной доксорубицином у крыс. В результате проведённого исследования в контрольной группе наблюдались характерные признаки поражения сердца доксорубицином, которые подтверждались изменениями картины ЭКГ, гемодинамических и гистологических показателей, а также повышением уровня сывороточных сердечных маркеров и снижением уровня антиоксидантных маркеров. Однако в группе, где животные получали ФК в дозе 300 мг/кг, данных изменений не наблюдались. Таким образом, полученные результаты подтверждают тот факт, что применение ФК в течение трёх недель оказывает кардиопротективное действие на сердце, защищая его от свободнорадикального повреждения.

Заключение

Учитывая многогранность оказываемых эффектов фульвовой кислоты на организм, которые нашли своё подтверждение в проведённых исследованиях, можно сделать вывод, что она обладает выраженной иммуномодулирующей и антиоксидантной активностью, а также проявляет противоаллергический, про- и противовоспалительный эффекты.

Дальнейшее изучение фульвовой кислоты представляет собой перспективное направление современной фармакологии в аспекте создания нового класса биогенных стимуляторов сочетанного действия на основе экологически чистых органических веществ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Орлов Д.С. *Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации*. М.: Изд-во МГУ; 1990. [Orlov D.S. *Gumusovye kisloty pochv i obshchaya teoriya gumifikatsii* [Humic acids of soils and the general theory of humification]. Moscow: MSU Publ.; 1990. (In Russian)].
2. Alvarez-Puebla R.A., Valenzuela-Calahorra C., Garrido J.J. Theoretical study on fulvic acid structure, conformation and aggregation. A molecular modelling approach. *Sci. Total Environ.* 2006;358(1-3):243–254. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2004.11.026.
3. Chien S.J., Chen T.C., Kuo H.C., Chen C.N., Chang S.F. Fulvic acid attenuates homocysteine-induced cyclooxygenase-2 expression in human monocytes. *BMC Complement. Altern. Med.* 2015;15:61. DOI: 10.1186/s12906-015-0583-x.
4. Ngoc L.P., Gold D.R., Tzianabos A.O., Weiss S.T., Celedón J.C. Cytokines, allergy, and asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2005;5(2):161–166. DOI: 10.1097/01.all.0000162309.97480.45.
5. Rodríguez N.C., Urrutia E.C., Gertrudis B.H., Chaverri J.P., Mejia G.B. Antioxidant activity of fulvic acid: A living matter-derived bioactive compound. *J. Food Agric. Environ.* 2011;9(3&4):123–127.
6. Sabi R., Vrey P., van Rensburg CEJ. Carbohydrate-derived Fulvic acid (CHD-FA) inhibits Carrageenan-induced inflammation and enhances wound healing: Efficacy and toxicity study in rats. *Drug Dev. Res.* 2011;73(1):18–23. DOI: 10.1002/ddr.20445.
7. Schellekens J., Buurman P., Kalbitz K., Zomeren A.V., Vidal-Torrado P., Cerli C., Comans R.N. Molecular features of humic acids and fulvic acids from contrasting environments. *Environ. Sci. Technol.* 2017;51(3):1330–1339. DOI: 10.1021/acs.est.6b03925.
8. Shikalgar T.S., Naikwade N.S. Cardioprotective effect of fulvic acid on doxorubicin induced cardiac oxidative stress in rats. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 2018;9(8):3264–3273. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.9(8).3264-73.
9. Visser S.A. Effect of humic substances on mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation. *Sci. Total Environ.* 1987;62:347–354. DOI: 10.1016/0048-9697(87)90521-3.
10. Yamada P., Isoda H., Han J.K., Talorete T.P.N., Yamaguchi T., Abe Y. Inhibitory effect of fulvic acid extracted from Canadian sphagnum peat on chemical mediator release by RBL-2H3 and KU812 cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2007;71(5):1294–1305. DOI: 10.1271/bbb.60702.
11. Zhao Y., Paderu P., Delmas G., Dolgov E., Lee M.H., Senter M., Park S., Leivers S., Perlin D.S. Carbohydrate-derived fulvic acid is a highly promising topical agent to enhance healing of wounds infected with drug-resistant pathogens. *J. Trauma Acute Care Surg.* 2015;79(4):S121–129. DOI: 10.1097/TA.0000000000000737.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Бендерский Никита Сергеевич, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: cornance@yandex.ru

Nikita S. Benderskiy, Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: cornance@yandex.ru

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

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

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

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

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

Криштопа Анна Викторовна, к.м.н., доц.,
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный меди-
цинский университет» Минздрава России

Anna V. Krishtopa, Cand. Sci. (Med.), Assoc.
Prof., Rostov State Medical University of the Mi-
nistry 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

Бабюк Светлана Эдуардовна, ФГБОУ ВО
«Ростовский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Svetlana E. Babyuk, Rostov State Medical
University of the Ministry of Health Care of Russia

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ НА ОСНОВЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БЕЛКОВ S1 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ЗАМЕНА АНТИБИОТИКАМ

О.В. Галзитская^{1,2,*}, А.В. Мачулин³, Е.И. Дерюшева⁴, А.В. Глякина^{1,5}, С.Ю. Гришин¹,
С.Р. Курпе¹, А.В. Панфилов¹, П.А. Домнин^{6,7}, С.В. Кравченко⁸, С.А. Ермолаева⁶

¹ФГБУН «Институт белка» РАН
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пущино, ул. Институтская, 4

²ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» РАН
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пущино, ул. Институтская, 3

³ФГБУН «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина» РАН
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пущино, просп. Науки, 5

⁴ФГБУН Федеральный исследовательский центр
«Пущинский научный центр биологических исследований РАН»
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пущино, просп. Науки, 3

⁵Институт математических проблем биологии РАН — Филиал ФГБУ
«Федеральный исследовательский центр Институт прикладной математики
им. М.В. Келдыша РАН»
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пущино, ул. Профессора Виткевича, 1

⁶ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии
имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
123098, Российская Федерация, Москва, ул. Гамалеи, 18

⁷ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
119991, Российская Федерация, Москва, ул. Ленинские горы, 1

⁸Институт экологической и сельскохозяйственной биологии (Х-БИО), ФГАОУ ВО
«Тюменский государственный университет»
625003, Российская Федерация, Тюмень, ул. Ленина, 25

Предложен оригинальный подход к разработке антимикробных пептидов (АМП) с новым механизмом действия, основанным на направленной коагрегации пептида с белком-мишенью. В качестве белка-мишени выбран уникальный многофункциональный бактериальный рибосомный белок S1. Изучены амилородогенные и антибактериальные эффекты различных пептидов, синтезированных на основе последовательностей рибосомных белков S1. Полученные результаты могут стать основой для создания новых АМП против различных штаммов патогенных организмов.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, рибосомный белок S1, разнообразие штаммов патогенных бактерий

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 18-14-00321.

Для цитирования: Галзитская О.В., Мачулин А.В., Дерюшева Е.И., Глякина А.В., Гришин С.Ю., Курпе С.Р., Панфилов А.В., Домнин П.А., Кравченко С.В., Ермолаева С.А. Антимикробные пептиды на основе последовательностей бактериальных белков S1 как потенциальная замена антибиотикам. *Биомедицина*. 2022;18(3):84–89. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-84-89>

Поступила 08.04.2022

Принята после доработки 18.04.2022

Опубликована 10.09.2022

ANTIMICROBIAL PEPTIDES BASED ON BACTERIAL S1 PROTEIN SEQUENCES AS A POTENTIAL ALTERNATIVE TO ANTIBIOTICS

Oxana V. Galzitskaya^{1,2,*}, Andrey V. Machulin³, Evgeniya I. Deryusheva⁴,
Anna V. Glyakina^{1,5}, Sergei Yu. Grishin¹, Stanislav R. Kurpe¹, Alexander V. Panfilov¹,
Pavel A. Domnin^{6,7}, Sergey V. Kravchenko⁸, Svetlana A. Ermolaeva⁶

¹*Institute of Protein Research of the Russian Academy of Sciences
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Institutskaya Str., 4*

²*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Institutskaya Str., 3*

³*Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms of the Russian Academy of Sciences
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Nauki Ave., 5*

⁴*Federal Research Center "Pushchino Scientific Center for Biological
Research of the Russian Academy of Sciences"
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Nauki Ave., 3*

⁵*Institute of Mathematical Problems of Biology of the Russian Academy of Sciences —
Branch of "Federal Research Center Institute of Applied Mathematics named
after M.V. Keldysh of the Russian Academy of Sciences"
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Professora Vitkevicha Str., 1*

⁶*National Research Center of Epidemiology and Microbiology named
after Honorary Academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health Care of Russia
123098, Russian Federation, Moscow, Gamalei Str., 18*

⁷*Lomonosov Moscow State University
119991, Russian Federation, Moscow, Leninskie Gory Str., 1*

⁸*Institute of Environmental and Agricultural Biology (X-BIO), Tyumen State University
625003, Russian Federation, Tyumen, Lenina Str., 25*

An original approach to the development of antimicrobial peptides (AMPs) with a new mechanism of action based on directed coaggregation of a peptide with a target protein is proposed. The unique multifunctional bacterial ribosomal protein S1 was chosen as the target protein. The amyloidogenic and antibacterial effects of various peptides synthesized on the basis of S1 ribosomal protein sequences were studied. The results obtained can serve as a basis for the creation of new AMPs against various strains of pathogenic organisms.

Keywords: fulvic acid, humic acids, antioxidant properties, anti-inflammatory properties, anti-allergic properties

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

Funding: research was funded by the Russian science foundation, Grant No. 18-14-00321.

For citation: Galzitskaya O.V., Machulin A.V., Deryusheva E.I., Glyakina A.V., Grishin S.Yu., Kurpe S.R., Panfilov A.V., Domnin P.A., Kravchenko S.V., Ermolaeva S.A. Antimicrobial Peptides Based on Bacterial S1 Protein Sequences as a Potential Alternative to Antibiotics. *Journal Biomed.* 2022;18(3):84–89. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-84-89>

Submitted 08.04.2022

Revised 18.04.2022

Published 10.09.2022

Резистентность бактерий к антибиотикам является одной из ведущих причин смертности по всему миру. По данным, опубликованным в работе [2], смертность, обусловленная устойчивостью бактерий к антибиотикам, в 2019 г. составила 1,27 млн случаев. Наиболее устойчивыми к воздействию антибиотиков оказались *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*. С устойчивыми патогенными микроорганизмами труднее бороться, при этом требуются более высокие дозы антимикробных препаратов, которые нередко оказываются более токсичными. Антимикробные пептиды (АМП) являются потенциальной заменой традиционным антибиотикам [13]. Механизм действия АМП часто основан на ингибировании метаболических процессов или нарушении целостности клеточной мембраны [3]. Нами был предложен новый класс антимикробных пептидов с новым механизмом действия, основанным на направленной ко-агрегации [1, 4]. При этом антимикробный эффект достигается через специфическое взаимодействие амилоидогенного пептида и белка-мишени внутри клетки (*in vivo*), что в результате приводит к нарушению биологической функции белка и гибели микроорганизма. В качестве белка-мишени, с которым должен связываться пептид, был выбран бактериальный рибосомный белок S1. Многофункциональный рибосомный белок S1 является частью 30S субъединицы рибосомы и играет важную роль в инициации трансляции мРНК, участвует в элонгации, а также выполняет ряд внерибосомных функций [5]. В бактериях рибосомный белок S1 содержит от одного до шести структурных повторов в зависимости от филогенетического отдела [10]. При исследовании 1331 последовательности белка S1 нами было выявлено наличие строго ограниченных амилоидогенных участков для каждой

группы S1 белков, содержащих разное количество структурных доменов, что позволило в дальнейшем рассматривать эти участки как уникальные и наиболее актуальные для изучения их склонности к фибриллообразованию [6]. В экспериментах *in vitro* установлено, что синтезированные на основе амилоидогенных участков белка S1 некоторые пептиды способны стимулировать образование фибрилл белка S1. Так, в случае патогенной бактерии *P. aeruginosa* антибактериальные свойства были обнаружены у пептида R23L, для которого минимальная ингибирующая концентрация (МИК) составляла 8 мкг/мл, что сопоставимо с МИК антибиотика гентамицина. Среди пептидов из S1 *Thermus thermophilus* наиболее эффективным был пептид R23I (минимальная ингибирующая концентрация около 50 мкг/мл), действие которого было сопоставимо с антибиотиком канамицином [7].

В литературе предполагается, что устойчивость к антибиотикам патогенных микроорганизмов может быть связана с генетическим разнообразием некоторых штаммов бактерий [9, 11, 12]. По этой причине нами было изучено разнообразие рибосомного белка S1 в различных штаммах *P. aeruginosa*, *T. thermophilus*, *S. aureus*, *E. coli*. Анализ *in silico* рибосомного белка S1 выявил его высокую консервативность между штаммами микроорганизмов одного вида. Обнаруженные 3 штамма *T. thermophilus* и 6 штаммов *P. aeruginosa* (версия UniProt 2022_01) характеризуются высокой идентичностью последовательностей рибосомного белка S1 и гена *rpsa*, кодирующего этот белок (98–99%). Для *E. coli* найдено 54 записи, соответствующие белкам, содержащим 6 структурных доменов (длиной 557 а.о.). Выравнивание белковых и геновых последовательностей для записей *E. coli*, содержащих 6 структурных доменов, также показало их высокую идентичность (99%). Для *S. aureus* обнаружено 22 записи с различной длиной белка (391–400 а.о.).

Для белков S1 из *S. aureus*, содержащих 4 структурных домена S1, множественное выравнивание белковых последовательностей показало, что процент идентичности для некоторых записей составляет 38%, в то время как большинство записей в этой группе имеют высокую идентичность (98–100%). Выравнивание последовательностей генов в этой группе показывает процент идентичности 53% для некоторых записей, для записей с высокой идентичностью белковых последовательностей идентичность генов составляет 99–100%. В этой группе нами была найдена последовательность штамма MRSA252 (UniProt ID: Q6GGT5), у которого остаток 281Asp расположен в положении, соответствующем амилоидогенному участку [9] на месте 281Val у штамма MSSA476 (UniProt ID: Q6G987). Для штамма MRSA252 в после-

довательности белка S1 характерна также замена 370Ser по сравнению со штаммами: штаммом MSSA476, штаммом N315, штаммом MW2 и штаммом Mu50/ATCC700699 (370N). Аминокислота в положении 198 (Asp или His) зависит от штамма.

Устойчивые к метициллину штаммы *S. aureus* (MRSA) являются наиболее распространённой причиной нозокомиальных инфекций (HA-MRSA) [8]. Кроме того, всё чаще сообщается о случаях множественной лекарственной устойчивости штаммов MRSA, например к пенициллинам. Поскольку *S. aureus*, наряду с другими патогенными организмами, вызывают широкий спектр больничных инфекций, полученные нами данные имеют актуальное значение для дальнейших исследований применения новых АМП на основе амилоидогенных участков рибосомного белка S1.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Курпе С.Р., Гришин С.Ю., Глякина А.В., Сли-
зень М.В., Панфилов А.В., Кочетов А.П., Су-
рин А.К., Кобякова М.И., Фадеев Р.С., Галзи-
тская О.В. Антибактериальные эффекты пептидов,
синтезированных на основе последовательности
рибосомного белка S1. *Биомедицинская химия*.
2021;67(3):231–243. [Kurpe S.R., Grishin S.Yu.,
Glyakina A.V., Slizen M.V., Panfilov A.V., Kochetov
A.P., Surin A.K., Kobayakova M.I., Fadeev R.S.,
Galzitskaya O.V. Antibacterial'nye efekty peptidov,
sintezirovannykh na osnove posledovatel'nosti ribo-
sornogo belka S1 [Antibacterial effects of peptides
synthesized based on the sequence of the S1 ribosomal
protein]. *Biomedical Chemistry*. 2021;67(3):231–243.
(In Russian)]. DOI: 10.18097/PBMC20216703231.
2. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global bur-
den of bacterial antimicrobial resistance in 2019:
A systematic analysis. *Lancet*. 2022;399(10325):629–
655. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
3. Brogden K. Antimicrobial peptides: pore formers
or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Micro*.
2005;3(3):238–250. DOI: 10.1038/nrmicro1098.
4. Galzitskaya O. Exploring amyloidogenicity of peptides
from ribosomal S1 protein to develop novel AMPs.
Front Mol. Biosci. 2021;8:705069. DOI: 10.3389/
fmolb.2021.705069.
5. Ghanizadeh A., Najafzade M., Rashki S., Marzhoosey-
ni Z., Motallebi M. Genetic diversity, antimicrobial
resistance pattern, and biofilm formation in *Klebsiella
pneumoniae* isolated from patients with Coronavirus
disease 2019 (COVID-19) and ventilator-associat-
ed pneumonia. *Biomed. Res. Int*. 2021;24:2347872.
DOI: 10.1155/2021/2347872.
6. Grishin S., Deryusheva E.I., Machulin A.V., Seliva-
nova O.M., Glyakina A.V., Gorbunova E.Y., Musta-
eva L.G., Azev V.N., Rekestina V.V., Kalebina T.S.,
Surin A.K., Galzitskaya O.V. Amyloidogenic prop-
ensities of ribosomal S1 proteins: Bioinformatics
screening and experimental checking. *Int. J. Mol. Sci*.
2020;21(15):5199. DOI: 10.3390/ijms21155199.
7. Grishin S., Dzhus U.F., Glukhov A.S., Selivanova O.M.,
Surin A.K., Galzitskaya O.V. Identification of amy-
loidogenic regions in *Pseudomonas aeruginosa* ribo-
somal S1 protein. *Int. J. Mol. Sci*. 2021;22(14):7291.
DOI: 10.3390/ijms22147291.
8. Kourtis A.P., Hatfield K., Baggs J., Mu Y., See I.,
Epson E., Nadle J., Kainer M.A., Dumyati G., Petit S.,
Ray S.M.; Emerging Infections Program MRSA au-
thor group, Ham D., Capers C., Ewing H., Coffin N.,
McDonald L.C., Jernigan J., Cardo D. Vital signs:
Epidemiology and recent trends in methicillin-resis-
tant and in methicillin-susceptible *Staphylococcus
Aureus* bloodstream infections. *MMWR Morb. Mortal.
Wkly. Rep*. 2019;68:214–219. DOI: 10.15585/mmwr.
mm6809e1.

9. Kravchenko S., Domnin P.A., Grishin S.Y., Panfilov A.V., Azev V.N., Mustaeva L.G., Gorbunova E.Y., Kobyakova M.I., Surin A.K., Glyakina A.V., Fadeev R.S., Ermolaeva S.A., Galzitskaya O.V. Multiple antimicrobial effects of hybrid peptides synthesized based on the sequence of ribosomal S1 protein from *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(1):524. DOI: 10.3390/ijms23010524.
10. Machulin A., Deryusheva E.I., Selivanova O.M., Galzitskaya O.V. The number of domains in the ribosomal protein S1 as a hallmark of the phylogenetic grouping of bacteria. *PLoS One.* 2019;14(8):e0221370. DOI: 10.1371/journal.pone.0221370.
11. Marazzato M., Scribano D., Sarshar M., Brunetti F., Fillo S., Fortunato A., Lista F., Palamara A.T., Zaglia C., Ambrosi C. Genetic diversity of antimicrobial resistance and key virulence features in two extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2022;19(5):2870. DOI: 10.3390/ijerph19052870.
12. Mbhele Z., Shobo C.O., Amoako D.G., Zishiri O.T., Bester L.A. Occurrence, antibiotic resistance, virulence factors, and genetic diversity of *Bacillus* spp. from public hospital environments in South Africa. *Microb. Drug Resist.* 2021;27(12):1692–1704. DOI: 10.1089/mdr.2020.0543.
13. Sierra J., Viñas M. Future prospects for antimicrobial peptide development: Peptidomimetics and antimicrobial combinations. *Expert Opin. Drug Discov.* 2021;16(6):601–604. DOI: 10.1080/17460441.2021.1892072.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Галзитская Оксана Валериановна*, д.ф.-м.н., ФГБУН «Институт белка» Российской академии наук; ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» РАН;
e-mail: ogalzit@vega.protres.ru

Мачулин Андрей Валериевич, к.б.н., ФГБУН «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина» РАН;
e-mail: and.machul@gmail.com

Дерюшева Евгения Игоревна, к.ф.-м.н., ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушчинский научный центр биологических исследований РАН»;
e-mail: evgenia.deryusheva@gmail.com

Глякина Анна Владимировна, к.ф.-м.н., ФГБУН «Институт белка» РАН, Институт математических проблем биологии РАН — Филиал ФГБУ «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной математики им. М.В. Келдыша РАН»;
e-mail: quark777a@gmail.com

Гришин Сергей Юрьевич, ФГБУН «Институт белка» РАН;
e-mail: syugrishin@gmail.com

Oxana V. Galzitskaya*, Dr. Sci. (Phys.-Math), Institute of Protein Research of the Russian Academy of Sciences; Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: ogalzit@vega.protres.ru

Andrey V. Machulin, Cand. Sci. (Biol.), Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: and.machul@gmail.com

Evgeniya I. Deryusheva, Cand. Sci. (Phys.-Math), Federal Research Center “Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences”;
e-mail: evgenia.deryusheva@gmail.com

Anna V. Glyakina, Cand. Sci. (Phys.-Math), Institute of Protein Research of the Russian Academy of Sciences; Institute of Mathematical Problems of Biology of the Russian Academy of Sciences — Branch of “Federal Research Center Institute of Applied Mathematics named after M.V. Keldysh of the Russian Academy of Sciences”;
e-mail: quark777a@gmail.com

Sergei Yu. Grishin, Institute of Protein Research of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: syugrishin@gmail.com

Курпе Станислав Римасо, ФГБУН «Институт
белка» РАН;
e-mail: st.kurpe@vega.protres.ru

Stanislav R. Kurpe, Institute of Protein Research
of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: st.kurpe@vega.protres.ru

Панфилов Александр Викторович, ФГБУН
«Институт белка» РАН;
e-mail: panfilov@vega.protres.ru

Alexander V. Panfilov, Institute of Protein Research
of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: panfilov@vega.protres.ru

Домнин Павел Александрович, ФГБУ «Нацио-
нальный исследовательский центр эпидемиоло-
гии и микробиологии имени почётного акаде-
мика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России; ФГБОУ
ВО «Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова»;
e-mail: pavlodomnin@yandex.ru

Pavel A. Domnin, National Research Center
of Epidemiology and Microbiology named after
Honorary Academician N.F. Gamaleya of the Mini-
stry of Health Care of Russia; Lomonosov Moscow
State University;
e-mail: pavlodomnin@yandex.ru

Кравченко Сергей Викторович, Институт эко-
логической и сельскохозяйственной биологии
(X-BIO), ФГАОУ ВО «Тюменский государствен-
ный университет»;
e-mail: svkraft@vega.protres.ru

Sergey V. Kravchenko, Institute of Environmental
and Agricultural Biology (X-BIO), Tyumen State
University;
e-mail: svkraft@vega.protres.ru

Ермолаева Светлана Александровна, д.б.н.,
ФГБУ «Национальный исследовательский цен-
тр эпидемиологии и микробиологии имени поч-
ётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава
России;
e-mail: drermolaeva@mail.ru

Svetlana A. Ermolaeva, Dr. Sci. (Biol.), National
Research Center of Epidemiology and Microbiology
named after Honorary Academician N.F. Gamaleya
of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: drermolaeva@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



С-ПЕПТИД ПРОИНСУЛИНА УЛУЧШАЕТ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ГОРМОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ У КРЫС С ДИАБЕТОМ ТИПА 2 С НОРМАЛЬНЫМ, НО НЕ ПОВЫШЕННЫМ, УРОВНЕМ ИНСУЛИНА

К.В. Деркач*, В.М. Бондарева, Н.Е. Басова, А.О. Шпаков

*ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223, Российская Федерация, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44*

При сахарном диабете 2-го типа (СД₂) нарушаются функции инсулиновой системы мозга, что обусловлено ослаблением транспорта инсулина через гематоэнцефалический барьер вследствие инсулиновой резистентности. Для коррекции инсулинового дефицита в мозге может быть использован интраназально вводимый инсулин, действие которого усиливается интраназально вводимым С-пептидом. Целью работы было изучить влияние обработки крыс с гиперинсулинемичным и нормоинсулинемичным СД₂ с помощью интраназально вводимого С-пептида (36 мкг/крысу/сут.), интраназально вводимого инсулина (20 мкг/крысу/сут.) и их комплекса на метаболические и гормональные показатели. При нормоинсулинемичном СД₂ интраназально вводимый С-пептид ослаблял дефицит тиреоидных гормонов и усиливал восстанавливающие эффекты интраназально вводимого инсулина на чувствительность к глюкозе, инсулину и лептину. При гиперинсулинемичном СД₂ интраназально вводимый С-пептид был неэффективен, а в комбинации с интраназально вводимым инсулином — ослаблял восстанавливающие эффекты последнего. Тем самым интраназально вводимый С-пептид и его комбинация с интраназально вводимым инсулином эффективны для восстановления метаболических и гормональных показателей при нормоинсулинемичном, но не гиперинсулинемичном СД₂.

Ключевые слова: инсулин, С-пептид проинсулина, интраназальное введение, диабет 2-го типа, ожирение, тиреоидные гормоны

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: поддержано государственным заданием Минобрнауки России № 075-0152-22-00.

Для цитирования: Деркач К.В., Бондарева В.М., Басова Н.Е., Шпаков А.О. С-пептид проинсулина улучшает метаболические и гормональные показатели у крыс с диабетом типа 2 с нормальным, но не повышенным, уровнем инсулина. *Биомедицина*. 2022;18(3):90–94. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-90-94>

Поступила 01.04.2022

Принята после доработки 13.04.2022

Опубликована 10.09.2022

PROINSULIN C-PEPTIDE IMPROVES METABOLIC AND HORMONAL PARAMETERS IN RATS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS HAVING NORMAL BUT NOT ELEVATED INSULIN LEVELS

Kira V. Derkach*, Vera M. Bondareva, Natalia E. Basova, Alexander O. Shpakov

*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences
194223, Russian Federation, Saint Petersburg, Thoreza Ave., 44*

In type 2 diabetes mellitus (DM2), the impaired functions of the brain insulin system are associated with the weakened insulin transport through the blood-brain barrier due to insulin resistance. Insulin deficiency in the brain can be corrected by intranasal administration of insulin (II), whose effect may be enhanced by intranasal administration of C-peptide (ICP). In this work, we study the effect of treating hyperinsulinemic and normoinsulinemic DM2 rats with ICP (36 µg/rat/day), II (20 µg/rat/day) and ICP+II on metabolic and hormonal parameters. In normoinsulinemic DM2, ICP attenuated thyroid hormone deficiency and enhanced the restorative effects of II on glucose, insulin, and leptin sensitivity. In hyperinsulinemic DM2, ICP was ineffective, and its combination with II weakened the restorative effects of II. Thus, ICP and its combination with II are effective in restoring metabolic and hormonal parameters in normoinsulinemic, but not hyperinsulinemic, DM2.

Keywords: insulin, proinsulin C-peptide, intranasal administration, type 2 diabetes mellitus, obesity, thyroid hormones

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

Funding: state assignment of Ministry of Science and Higher Education No. 075-0152-22-00.

For citation: Derkach K.V., Bondareva V.M., Basova N.E., Shpakov A.O. Proinsulin C-peptide Improves metabolic and Hormonal Parameters in Rats with Type 2 Diabetes Mellitus Having Normal but not Elevated Insulin Levels. *Journal Biomed.* 2022;18(3):90–94. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-90-94>

Submitted 01.04.2022

Revised 13.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

В настоящее время распространение сахарного диабета 2-го типа (СД2) приобрело характер эпидемии. Основными его признаками являются инсулиновая резистентность (ИР), нарушенная толерантность к глюкозе, дислипидемия. Несмотря на прогресс в лечении СД2, применяемые фармакологические подходы не всегда эффективны и приводят к побочным эффектам [2]. Одной из причин нарушений при СД2 является ослабление инсулиновой сигнализации в мозге, что обусловлено дефицитом инсулина в ЦНС. При СД2 с гиперинсулинемией дефицит инсулина обусловлен нарушением его рецепторопосредуемого транспорта через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), как результат ИР [1]. При декомпенсированном СД2 с нормальной или немного сниженной продукцией инсулина дефицит инсулина в мозге также обусловлен нарушением его транспорта через ГЭБ и усугубляется на фоне недостаточности гормона в кровотоке.

При синтезе инсулина в β-клетках из молекулы проинсулина также образуется С-пептид, необходимый для правильной укладки молекулы инсулина и для сохранения его комплексов в активном состоянии [3]. С-пептид обеспечивает высокий уровень активности инсулиновых комплексов после секреции в кровотока и имеет собственную активность, хотя его сигнальные пути до конца не выяснены [3, 4]. Уровень С-пептида в крови положительно коррелирует с уровнем инсулина, вследствие чего его используют для оценки секреции инсулина. Однако данных о транспорте С-пептида через ГЭБ и его уровне в мозге нет. Поскольку дефицит С-пептида в мозге может приводить к ослаблению С-пептидных и инсулиновых путей, то перспективным является его компенсация с помощью интраназально вводимого С-пептида (ИСП), в т. ч. в комбинации с инсулином (ИИ).

Целью работы было изучить влияние обработки самцов крыс с гиперинсу-

линемичным СД2 (ГИ-СД2) с ожирением и с нормоинсулинемичным СД2 (НИ-СД2) без ожирения с помощью ИСП (36 мкг/крысу/сут.), ИИ (20 мкг/крысу/сут.) и комбинации ИИ+ИСП на метаболические и гормональные показатели.

Материалы и методы

В экспериментах использовали самцов крыс Wistar, которых содержали в стандартных условиях вивария. Все процедуры по уходу и использованию животных осуществляли в соответствии с требованиями Этического комитета ИЭФБ РАН, European Communities Council Directive 1986 (86/609/ЕЕС) и «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». ГИ-СД2 с ожирением индуцировали высокожировой диетой, которую крысы получали в течение 2 мес., с последующей обработкой стрептозотоцином (СТЗ, 15 мг/кг) («Sigma», США) и продолжением диеты в течение 1 мес. Контрольные животные получали стандартный корм, вместо СТЗ — 0,1 М Na-цитратный буфер (pH=4,5). НИ-СД2 индуцировали введением 5-суточным крысам высокой дозы СТЗ (75 мг/кг). Через 3 мес. у них выявлялись явные признаки СД2. В случае ГИ-СД2 отбирали крыс с повышенными массой тела и постпрандиальными уровнями глюкозы (> 7 мМ) и инсулина в крови. В случае НИ-СД2 отбирали крыс с повышенным уровнем глюкозы (> 15 мМ). Для ГИ-СД2 формировали 5 групп (n=5): контроль, который интраназально получал физ. р-р (К1), диабет без лечения (ГИ-Д), диабет с лечением в течение 9 дней с помощью ИСП в дозе 36 мкг/крысу/сут. (ГИ-ДС), ИИ в дозе 20 мкг/крысу/сут. (ГИ-ДИ) и их комбинации в тех же дозах (ГИ-ДСИ). Для НИ-СД2 также формировали 5 групп (n=5): контроль (К2), диабет без лечения (НИ-Д) и с 9-дневным лечением ИСП (НИ-ДС), ИИ (НИ-ДИ) и совместно ИСП и ИИ (НИ-ДСИ) в тех же дозах. За день до окончания эксперимента

проводили оральный глюкозотолерантный тест (ОГТТ), для чего после 12 ч депривации пищи вводили через зонд 40% р-р глюкозы (2 г/кг). Образцы крови забирали из хвостовой вены под местным наркозом (2% р-р лидокаина, 2–4 мг/кг) до и через 15, 30, 60 и 120 мин после глюкозной нагрузки, уровень глюкозы оценивали с помощью тест-полосок «One Touch Ultra» (США). Уровни инсулина и лептина до и через 120 мин после глюкозной нагрузки измеряли с помощью наборов «Rat Insulin ELISA» («Mercodia», Швеция) и «ELISA for Leptin, Rat» («Cloud-Clone Corp.», США). В последний день эксперимента оценивали уровни свободного (fT4) и общего тироксина (tT4), свободного (fT3) и общего трийодтиронина (tT3), используя наборы фирмы «Иммунотех» (Россия). Статистический анализ данных проводили с помощью программы «Microsoft Office Excel 2007» (Microsoft Corp., США), результаты представляли как $M \pm SEM$. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для сравнения двух выборок с нормальным распределением использовали t-критерий Стьюдента, значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

У крыс, в течение 3 мес. находящих на высокожировой диете и обработанных низкой дозой СТЗ, развивались ожирение и другие признаки СД2, включая гиперинсулинемию, как базовую, так и после глюкозной нагрузки (табл.). Обработка крыс с ГИ-СД2 с помощью ИСП (9 дней) существенно не влияла на массу тела, уровни глюкозы, инсулина и лептина в крови после глюкозной нагрузки и на уровни тиреоидных гормонов. ИИ ослаблял гипергликемию, гиперинсулинемию и гиперлептинемиию и повышал уровни fT4, tT4 и tT3. В сочетании с ИСП восстанавливающие эффекты ИИ снижались, так что, по сравнению с группой ГИ-ДИ, отличий исследуемых

Таблица. Метаболические и гормональные показатели у самцов крыс с ГИ-СД2 и НИ-СД2, и влияние длительной их обработки ИСП, ИИ и совместно ИСП и ИИ
Table. Metabolic and hormonal parameters in male rats with HI-DM2 and NI-DM2, and the effect of their long-term treatment with ICP, II, and both ICP and II

Параметр	К1	ГИ-Д	ГИ-ДС	ГИ-ДИ	ГИ-ДСИ
Масса тела, г	360±8	423±11 ^a	432±12 ^a	417±11 ^a	424±14 ^a
Глюкоза, мм*	5,0±0,2	8,3±0,5 ^a	8,6±0,8 ^a	6,6±0,4 ^{a, b}	7,5±0,7 ^a
Инсулин, нг/мл	0,57±0,08	1,30±0,15 ^a	1,46±0,17 ^a	0,68±0,11 ^b	0,98±0,16
Инсулин, нг/мл*	0,63±0,10	1,86±0,21 ^a	1,94±0,29 ^a	1,09±0,13 ^{a, b}	1,68±0,22 ^a
Лептин, нг/мл*	1,49±0,26	4,76±0,56 ^a	4,48±0,37 ^a	3,15±0,27 ^{a, b}	3,98±0,46 ^a
fT4, пМ	29,8±1,4	22,5±1,1 ^a	24,7±0,9 ^a	30,6±1,5 ^b	27,4±0,8 ^a
tT4, нМ	102,6±4,6	79,0±5,7 ^a	90,1±7,9	108,4±3,2 ^b	98,2±8,9
fT3, пМ	3,72±0,11	3,21±0,10 ^a	3,08±0,16 ^a	3,55±0,24	3,40±0,18
tT3, нМ	2,76±0,14	2,08±0,09 ^a	2,12±0,14 ^a	2,51±0,10 ^b	2,27±0,13 ^a
Параметр	К2	НИ-Д	НИ-ДС	НИ-ДИ	НИ-ДСИ
Масса тела, г	356±18	372±19	376±15	380±18	369±12
Глюкоза, мм*	5,2±0,2	18,5±1,7 ^a	14,3±1,6 ^a	13,2±1,9 ^a	10,7±0,8 ^{a, b}
Инсулин, нг/мл	0,61±0,12	0,45±0,07	0,48±0,10	0,37±0,15	0,43±0,10
Инсулин, нг/мл*	0,76±0,17	1,11±0,14	0,90±0,16	0,88±0,11	0,67±0,07 ^b
Лептин, нг/мл*	1,54±0,17	2,78±0,22 ^a	1,93±0,12 ^b	2,20±0,34	1,82±0,21 ^b
fT4, пМ	27,1±1,0	20,6±1,5 ^a	25,5±1,6	26,8±1,3 ^b	29,7±1,5 ^b
tT4, нМ	95,2±5,9	76,3±7,2	83,6±4,8	84,7±5,2	108,5±5,1 ^b
fT3, пМ	3,57±0,16	2,87±0,10 ^a	3,20±0,17	3,11±0,12	3,45±0,13 ^b
tT3, нМ	2,66±0,08	1,84±0,13 ^a	2,25±0,20	2,31±0,04 ^{a, b}	2,51±0,15 ^b

Примечания: * — уровни глюкозы и гормонов через 120 мин после глюкозной нагрузки в ОГТТ; а и b — различия с контролем и диабетом значимы при $p < 0,05$; $M \pm SEM$, $n = 5$.

Notes: * — the glucose and hormones levels 120 min after glucose loading in OGTT; a and b — the difference with control and diabetes is significant at $p < 0.05$; $M \pm SEM$, $n = 5$.

показателей в группе ГИ-ДСИ от необработанных диабетических крыс выявлено не было (табл.).

У крыс, которых в неонатальном периоде обрабатывали высокой дозой СТЗ, в возрасте 3 мес. развивался тяжёлый, декомпенсированный СД2 без ожирения и с небольшим снижением уровня инсулина. Поскольку отличия базового уровня инсулина от такового в контроле не были значимыми ($p > 0,05$), то таких животных рассматривали как нормоинсулинемичных. В отличие от ГИ-СД2, при лечении ИСП в той же дозе и в те же сроки у крыс с НИ-СД2 отмечали значимое улучшение ряда показателей. У них

снижался стимулированный глюкозой уровень лептина, частично восстанавливались уровни тиреоидных гормонов, сниженные при НИ-СД2. Отчётливо выраженное восстановление уровней глюкозы, глюкоза-стимулированных уровней инсулина и лептина, уровней тиреоидных гормонов отмечали при совместном воздействии ИСП и ИИ, причём эти эффекты были более выражены, чем при монотерапии ИИ (табл.).

Поскольку рецептор для С-пептида не идентифицирован, можно полагать, что его транспорт через ГЭБ не является рецептор-опосредуемым, и, в отличие от инсулина, наблюдается корреляция между уров-

нями С-пептида в крови и мозге. Вследствие этого в условиях С-пептидемии, характерной для ГИ-СД2, в мозге наблюдается избыток С-пептида, который усугубляется при дополнительном его интраназальном введении. Повышение уровня С-пептида приводит к повышению его связывания с инсулином, результатом чего является снижение уровня активного инсулина и ослабление инсулиновой сигнализации [3]. В случае НИ-СД2 со слабо выраженным дефицитом инсулина

и С-пептида, ИСП, напротив, компенсирует «недостаток» их сигналинга в ЦНС.

Вывод

Интраназально вводимый С-пептид и его комбинация с интраназально вводимым инсулином эффективны для восстановления метаболических и гормональных показателей у крыс с нормоинсулинемичным СД2, но существенно не влияют на них у животных с гиперинсулинемичным СД2.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Derkach K., Zakharova I., Zorina I., Bakhtuykov A., Romanova I., Bayunova L., Shpakov A. The evidence of metabolic-improving effect of metformin in Ay/a mice with genetically-induced melanocortin obesity and the contribution of hypothalamic mechanisms to this effect. *PLoS One*. 2019;14(3):e0213779. DOI: 10.1371/journal.pone.0213779.
2. Serbis A., Giapros V., Kotanidou E.P., Galli-Tsinopoulou A., Siomou E. Diagnosis, treatment and prevention of type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *World J. Diabetes*. 2021;12(4):344–365. DOI: 10.4239/wjcd.v12.i4.344.
3. Shpakov A.O. Mechanisms of action and therapeutic potential of proinsulin C-peptide. *J. Evol. Biochem. Physiol*. 2017;53(3):180–190. DOI: 10.1134/S0022093017030024.
4. Washburn R.L., Mueller K., Kaur G., Moreno T., Moustaid-Moussa N., Ramalingam L., Dufour J.M. C-peptide as a therapy for type 1 diabetes mellitus. *Biomedicines*. 2021;9(3):270. DOI: 10.3390/biomedicines9030270.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Деркач Кира Викторовна*, к.б.н., ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;
e-mail: derkach_k@list.ru

Kira V. Derkach*, Cand. Sci. (Biol.), Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: derkach_k@list.ru

Бондарева Вера Михайловна, к.б.н., ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;
e-mail: bondver@mail.ru

Vera M. Bondareva, Cand. Sci. (Biol.), Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: bondver@mail.ru

Басова Наталья Евгеньевна, к.б.н., ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;
e-mail: basovnat@mail.ru

Natalia E. Basova, Cand. Sci. (Biol.), Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: basovnat@mail.ru

Шпаков Александр Олегович, д.б.н., ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;
e-mail: alex_shpakov@list.ru

Alexander O. Shpakov, Dr. Sci. (Biol.), Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: alex_shpakov@list.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



ФЕРМЕНТИРОВАННЫЙ СВЕКОЛЬНЫЙ СОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЫСОКОАКТИВНОГО СИМБИОТИЧЕСКОГО КОНСОРЦИУМА ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ КАК СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЙ ПРОДУКТ ДЛЯ ПИТАНИЯ ЛИЦ, РАБОТАЮЩИХ И ПРОЖИВАЮЩИХ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

А.В. Мачулин^{1*}, И.В. Косарев², В.С. Хлебников², Р.Н. Василенко², В.А. Самойленко¹,
С.Ю. Пчелинцев², В.М. Абрамов²

¹ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр
биологических исследований РАН»

142290, Российская Федерация, Московская обл., Пушкино, просп. Науки, 3

²ОАО «Институт инженерной иммунологии»

142380, Российская Федерация, Московская обл., Чеховский р-н, п. Любучаны, ул. Научная, 1

Консорциум симбиотических штаммов лактобацилл *Lactobacillus plantarum* MDIIE 2165 и *Lactobacillus rhamnosus* MDIIE 2166, депонированных во Всероссийской коллекции микроорганизмов (ИБФМ РАН), является наиболее пригодным для ферментации свекольного сока (ФСС). В качестве закваски прямого внесения данный консорциум инновационных пробиотических лактобацилл обеспечивает глубокую переработку исходного сырья и получение продукта специализированного питания с высокими органолептическими показателями, биологической ценностью и адаптогенными свойствами. ФСС сок может использоваться в качестве продукта специализированного питания для повышения результативности спортсменов, лиц, работающих и проживающих в экстремальных условиях, а также для продления активного профессионального долголетия населения страны.

Ключевые слова: лактобациллы *Lactobacillus plantarum* MDIIE 2165 и *Lactobacillus rhamnosus* MDIIE 2166, ферментация свекольного сока

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Мачулин А.В., Косарев И.В., Хлебников В.С., Василенко Р.Н., Самойленко В.А., Пчелинцев С.Ю., Абрамов В.М. Ферментированный свекольный сок с использованием высокоактивного симбиотического консорциума пробиотических штаммов лактобацилл как специализированный продукт для питания лиц, работающих и проживающих в экстремальных условиях. *Биомедицина*. 2022;18(3):95–98. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-95-98>

Поступила 08.04.2022

Принята после доработки 18.04.2022

Опубликована 10.09.2022

FERMENTED BEET JUICE WITH A HIGHLY ACTIVE SYMBIOTIC CONSORTIUM OF PROBIOTIC LACTOBACILLUS STRAINS AS A SPECIALIZED PRODUCT FOR NUTRITION OF PEOPLE WORKING AND LIVING IN EXTREME CONDITIONS

Andrey V. Machulin^{1*}, Igor V. Kosarev², Valentin S. Khlebnikov², Raisa N. Vasilenko²,
Vladimir A. Samoilenko¹, Sergey Yu. Pchelintsev², Vyacheslav M. Abramov²

¹Federal Research Center "Pushchino Scientific Center for Biological Research
of the Russian Academy of Sciences"

142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Science Ave., 3

²Institute of Immunological Engineering

142380, Russian Federation, Moscow Region, Chekhov District, Lyubuchany, Nauchnaya Str., 1

The consortium of symbiotic strains of lactobacilli *Lactobacillus plantarum* MDIIE 2165 and *Lactobacillus rhamnosus* MDIIE 2166, deposited in the All-Russian Collection of Microorganisms (IBFM RAS), is the most suitable starter for obtaining a fermented beet juice (FBJ). These innovative probiotic lactobacilli ensure a deep processing of raw materials and allow a specialized food product with high organoleptic characteristics, biological value and adaptogenic properties to be obtained. FBJ can be used as a specialized nutrition product to improve the performance of athletes and people working and living in extreme conditions, as well as to prolong the professional longevity of the population.

Keywords: lactobacilli *Lactobacillus plantarum* MDIIE 2165, *Lactobacillus rhamnosus* MDIIE 2166, beet juice fermentation

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

For citation: Machulin A.V., Kosarev I.V., Khlebnikov V.S., Vasilenko R.N., Samoilenko V.A., Pchelintsev S.Yu., Abramov V.M. Fermented Beet Juice with a Highly Active Symbiotic Consortium of Probiotic *Lactobacillus* Strains as a Specialized Product for Nutrition of People Working and Living in Extreme Conditions. *Journal Biomed.* 2022;18(3):95–98. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-95-98>

Submitted 08.04.2022

Revised 18.04.2022

Published 10.09.2022

Создание функциональных и специализированных продуктов питания является актуальной задачей диетологии XXI века. Пища будущего призвана быть не только источником энергии и пластических веществ, но и средством профилактики вызываемых цивилизационными стрессами заболеваний. Один из эффективных путей функционализации продуктов питания — их ферментация с помощью пробиотических микроорганизмов. По современным представлениям, помимо подавления патогенной микрофлоры, пробиотики способны активировать иммунную систему хозяина, предотвращать негативные последствия окислительного стресса, в т. ч. и повреждение ДНК, и вызывать целый ряд других адаптогенных эффектов. В связи с этим, наиболее перспективным направлением пищевой промышленности является технология производства ферментированных овощных соков, таких как ферментированный свекольный сок (ФСС), в качестве

продукта специализированного питания. Созданный продукт должен сочетать в себе все положительные свойства как свекольного сока, так и пробиотиков, находящихся в закваске прямого внесения и обеспечивающих его ферментацию. Учитывая, что обогащение соков биологически активными веществами в процессе молочнокислого брожения зависит от используемых штаммов молочнокислых бактерий, важно подобрать такие штаммы, которые помогут целенаправленно обогащать конечный продукт, тем самым повышая его адаптационные и лечебно-профилактические свойства, а также сохранять полезные свойства натурального свекольного сока.

При разработке основ технологии получения ФСС нами предлагается использовать консорциум инновационных штаммов симбиотических лактобацилл *L. rhamnosus* 2166 и *L. plantarum* 2165. Согласно данным полногеномного секвенирования, в геноме *L. rhamnosus* 2166 обнаружено

545 генов, отвечающих за метаболизм различных сахаров, что позволяет производить глубокую переработку исходного сырья и получать ФСС с высокими органолептическими свойствами и пищевой ценностью. *L. plantarum 2165* содержит в своём геноме GABA-гены, ответственные за продукцию и секрецию нейротрансммиттера — гамма-аминомасляной кислоты, участвующей в обменных процессах головного мозга и препятствующей развитию депрессивных состояний у людей, находящихся в экстремальных условиях [5]. Оба штамма обладают пробиотическими свойствами: являются регуляторами естественного иммунитета, проявляют антагонистические свойства к патогенам и условно-патогенным микроорганизмам, устойчивы к желудочному и кишечному стрессу [1]. На базе опытной технологической установки ИБФМ РАН инициативно проведены исследования по оценке соответствия консорциума штаммов *L. rhamnosus MD ПЕ 2166* и *L. plantarum MD ПЕ 2165* технологическим требованиям. Установлено, что консорциум обеспечивает ультрабыструю ферментацию свекольного сока. Полученный ФСС обладает высокими органолептическими свойствами и пищевой ценностью. ФСС содержит соли железа, кобальта, магния, фосфора, витамин В12, активирующие процессы кроветворения и особенно эритропоэз.

Применение ФСС в качестве продукта специализированного питания повышает адаптационные способности спортсменов и лиц, работающих и проживающих в экстремальных условиях, к возрастающим физическим и психическим нагрузкам, без нарушения здоровья. При этом ферментация

свекольного сока приводит к усилению его антиоксидантных свойств за счёт метаболитов пробиотических микроорганизмов, находящихся в закваске прямого внесения, что повышает ценность ФСС как продукта специализированного питания. Кроме того, пробиотические лактобациллы способны нормализовать состав микрофлоры кишечника. Натуральный свекольный сок является NO-донором, природным нитрозильным биомиметиком. Известно, что NO играет ключевую роль в регуляции кровообращения, мышечной контрактильности, дифференцировки миоцитов. Участвует в обеспечении гомеостаза глюкозы и кальция [2]. В организме человека экзогенный нитрат (NO_3^-) превращается в биодоступный нитрит (NO_2^-) путём восстановления, которое осуществляют анаэробные факультативные бактерии, находящиеся в слюне. Образовавшийся нитрит всасывается в кровь и по кровяному руслу доставляется в различные ткани и органы, где под воздействием NO-синтазы превращается в NO [3]. NO проявляет хорошо известные гемодинамические эффекты. В литературе также имеются убедительные данные о способности пробиотических лактобацилл генерировать NO в тонком кишечнике, где располагаются ворсинки, в которых энтероциты контактируют с эндотелиоцитами кровеносных капилляров [4].

Таким образом, ФСС может использоваться в качестве продукта специализированного питания для спортсменов, контингентов людей, находящихся в экстремальных условиях труда (работники МЧС, космонавты, участники освоения Арктики), а также для населения страны с целью продления активного профессионального долголетия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Абрамов В.М., Хлебников В.С., Пчелинцев С.Ю., Василенко Р.Н., Косарев И.В., Сакулин В.К., Мельников В.Г. Консорциум пробиотических штаммов *Lactobacillus rhamnosus* и *Lactobacillus plantarum*

для изготовления бактериального препарата и закваски прямого внесения для производства ферментированного молока и ферментированного свекольного сока. Патент РФ № RU 2506308 C1.

2012. [Abramov V.M., Khlebnikov V.S., Pchelintsev S.Yu., Vasilenko R.N., Kosarev I.V., Sakulin V.K., Melnikov V.G. *Konsortium probioticheskikh shتامov Lactobacillus rhamnosus i Lactobacillus plantarum dlya izgotovleniya bakterial'nogo preparata i zakvaski pryamogo vneseniya dlya proizvodstva fermentirovannogo moloka i fermentirovannogo svekol'nogo soka [Consortium of Lactobacillus rhamnosus and Lactobacillus plantarum probiotic strains for the manufacture of a bacterial preparation and of direct-to-the vat starters for the production of fermented milk and fermented beet juice]*. Patent of RF No. RU 2506308 (In Russian)].
2. Dejam A., Hunter C.J., Schechter A.N., Gladwin M.T. Emerging role of nitrite in human biology. *Blood Cells Mol. Dis.* 2004;32(3):423–429. DOI: 10.1016/j.bcmd.2004.02.002.
3. Duncan C., Dougall H., Johnston P., Green S., Brogan R., Leifert C., Smith L., Golden M., Benjamin N. Chemical generation of nitric oxide in the mouth from the enterosalivary circulation of dietary nitrate. *Nat. Med.* 1995;1:546–551. DOI: 10.1038/nm0695-546.
4. Jensen F.B. The role of nitrite in nitric oxide homeostasis: A comparative perspective. *Biochim. Biophys. Acta.* 2009;1787(7):841–848. DOI: 10.1016/j.bbabi.2009.02.010.
5. Karlyshev A.V., Abramov V.M. Draft genome sequence of *Lactobacillus plantarum* 2165. *Genome Announc.* 2014;2(1):e01179–e011713. DOI: 10.1128/genomeA.01179-13.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мачулин Андрей Валериевич*, к.б.н., ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушчинский 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

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

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

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

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

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

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

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

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-99-103>



ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ФИТОАДАПТОГЕНОВ НА ФИЗИЧЕСКУЮ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ АУТБРЕДНЫХ МЫШЕЙ-САМОК

Ю.С. Алексеева*, Ю.Н. Мещерякова, Я.В. Шмакова, В.Ц. Болотова

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России

197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А

Изучены сухие экстракты элеутерококка колючего, левзеи сафроловидной, лимонника китайского в дозах 10, 25, 50, 75 мг/кг. Оценка актопротекторной активности проводили на аутбредных мышцах-самках в тесте «Вынужденное плавание» с грузом 10% от массы тела животного. Установлено, что максимально выраженную актопротекторную активность оказывают сухие экстракты элеутерококка колючего (50 мг/кг), левзеи сафроловидной (10 мг/кг) и лимонника китайского (25 мг/кг).

Ключевые слова: растительные адаптогены, вынужденное плавание, актопротекторное действие

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Алексеева Ю.С., Мещерякова Ю.Н., Шмакова Я.В., Болотова В.Ц. Оценка влияния фитоадаптогенов на физическую работоспособность аутбредных мышей-самок. *Биомедицина*. 2022;18(3):99–103. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-99-103>

Поступила 05.04.2022

Принята после доработки 11.04.2022

Опубликована 10.09.2022

EVALUATION OF THE EFFECT OF PHYTO-ADAPTOGENS ON THE PERFORMANCE CAPABILITY OF OUTBRED FEMALE MICE

Yuliya S. Alekseeva*, Yuliya N. Meshcheryakova, Yana V. Shmakova, Vera Ts. Bolotova

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

197376, Russian Federation, St. Petersburg, Professora Popova Str., 14, lit. A

The effect of *Eleutherococcus senticosus*, *Rhaponticum carthamoides* and *Schisandra chinensis* extracts in doses of 10, 25, 50 and 75 mg/kg were studied. The actoprotective activity the studied adaptogens was assessed on outbred female mice in a forced swim test with a load of 10% of the animal's body weight. Dry extracts of *Eleutherococcus senticosus* (50 mg/kg), *Rhaponticum carthamoides* (10 mg/kg) and *Schisandra chinensis* (25 mg/kg) were found to exhibit the most pronounced actoprotective activity.

Keywords: phyto-adaptogens, forced swim test, actoprotective action

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

For citation: Alekseeva Y.S., Meshcheryakova Y.N., Shmakova Y.V., Bolotova V.Ts. Evaluation of the Effect of Phyto-Adaptogens on the Performance Capability of Outbred Female Mice. *Journal Biomed*. 2022;18(3):99–103. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-99-103>

Submitted 05.04.2022

Revised 11.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Под адаптогенами принято подразумевать группу лекарственных веществ, представители которой способны ускорять процессы адаптации, нормализовать и регулировать функции организма на неблагоприятные факторы [7]. Одним из эффектов адаптогенов является актопротекторное действие, заключающееся в повышении выносливости и работоспособности организма. Препараты с подобным действием нашли своё применение в спорте высоких достижений, фармакологической коррекции работоспособности спасателей. В связи с этим представляется актуальным изучить влияние элеутерококка колючего (сем. Аралиевые), левзеи сафроловидной (сем. Астровые) и лимонника китайского (сем. Лимонниковые) на физическую работоспособность лабораторных животных.

Целью исследования являлась оценка влияния сухих экстрактов элеутерококка колючего, левзеи сафроловидной и лимонника китайского на физическую работоспособность аутбредных мышей-самок в тесте вынужденного плавания.

Материалы и методы

Исследования проводили на аутбредных мышах-самках массой тела 18–25,5 г ($n=116$) в соответствии с приказом Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Животные были получены из ФГУП «ПЛЖ Рапполово» (Ленинградская обл.), прошли необходимый карантин и содержались в стандартных условиях сертифицированного вивария на обычном пищевом рационе со свободным доступом к воде.

Объектами исследования были выбраны извлечения (сухие экстракты) левзеи сафроловидной (СЭЛС), элеутерококка колючего (СЭЭК) и лимонника китайского (СЭЛК)

(ООО «Вистерра», Россия), которые изучали в диапазоне доз: 10, 25, 50 и 75 мг/кг.

Исследования проводили в утренние часы при стандартном уровне освещения. Животные были рандомизированы на 8 групп по 8 мышей в каждой. Расчётную дозу экстрактов (10, 25, 50 и 75 мг/кг) вводили внутривентрикулярно однократно с помощью зонда за 1 ч до начала эксперимента. Контрольная группа из 20 мышей получала физ. р-р в эквивалентном количестве.

Оценку физической работоспособности проводили в тесте «Вынужденное плавание» со смешанной (аэробно-анаэробной) нагрузкой (с грузом 10% от массы тела) [1, 3]. Во время теста животных помещали в соответствующий отсек бассейна и сразу включали секундомер. Критерием окончания теста являлось погружение животного на дно бассейна без плавательных движений или неудачной попытки всплыть на поверхность более 3 с [1].

Статистическую обработку результатов проводили методами однофакторного (тест ANOVA) дисперсионного анализа в пакете статистического анализа данных табличного процессора Excel for Windows (Microsoft Corp., США). Уровень доверительной вероятности был задан равным 95%. Числовые данные, приводимые в таблицах, представлены в виде: среднее арифметическое (M) \pm ошибка среднего арифметического (m).

Результаты исследований

В результате проведённого эксперимента было установлено, что все фитоадаптогены в диапазоне доз 10–75 мг/кг способствуют повышению физической работоспособности. Так, сухой экстракт элеутерококка колючего (доза 50 мг/кг) на 94% ($p<0,05$) увеличивал физическую работоспособность мышей-самок, сухой экстракт левзеи сафроловидной (доза 10 мг/кг) повышал данную активность на 106% ($p<0,05$), тогда как лимонник китайский (доза 25 мг/кг) повышал изучаемый показатель на 53% ($p<0,05$)

Таблица. Влияние перорального введения экстрактов фитоадаптогенов на время предельного плавания лабораторных животных

Table. The effect of oral administration of the studied phyto-adaptogen extracts on the mobility time of laboratory animals

Препарат	Доза, мг/кг	n	M±m, мин	Продолжительность плавания		
				Средний Δ (мин)	% Δ к контролю	p*
Контроль		20	4,74±0,48	0	0	
СЭЛС	10	8	9,77±2,01	5,02	106	0,03227766
СЭЛС	25	8	8,14±1,98	3,4	72	
СЭЛС	50	8	9,56±1,97	4,82	102	0,03813161
СЭЛС	75	8	3,46±0,29	-1,28	-27	
СЭЭК	10	8	3,50±0,42	-1,24	-74	
СЭЭК	25	8	9,21±1,31	4,47	94	0,00964427
СЭЭК	50	8	12,41±0,98	7,67	162	1,9166×10 ⁻⁵
СЭЭК	75	8	11,44±2,06	6,7	141	0,00861727
СЭЛК	10	8	6,67±0,84	1,93	41	
СЭЛК	25	8	7,25±1,49	2,51	53	0,02284484
СЭЛК	50	8	3,34±0,87	-1,4	-30	
СЭЛК	75	8	4,03±0,61	-0,71	-15	

Примечание: * – уровень значимости (p), отражающий отсутствие достоверных отличий от группы контроля (p>0,1), не приводится.

Note: * – the significance level (p), which reflects the absence of significant differences from the control group (p>0.1), is not given.

по сравнению с животными контрольной группы (табл.).

Обсуждение результатов

Элеутерозиды, присутствующие в извлечениях из корней и корневищ элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus*), способствуют увеличению активности супероксиддисмутазы, снижают образование свободных радикалов, оказывают антиоксидантное действие [5], оптимизируют энергетические процессы внутриклеточного синтеза аминокислот и их транспорт извне, в результате чего увеличивается энергетический и пластический обмен в клетке в фазу суперкомпенсации, кроме того, увеличивается синтез белков и нуклеиновых кислот [2, 7].

Основной группой биологически активных веществ извлечений из плодов лимонника китайского (*Schizandra chinensis*)

являются лигнаны (схизандрин), которые способствуют увеличению активности супероксиддисмутазы, обеспечивают шунтирование потока электронов в дыхательной цепи [9, 10].

Экдистероиды, входящие в состав левзеи сафроловидной (*Rhaponticum carthamoides*), стимулируют синтез белка в мышцах, а также влияют на липидный и углеводный обмен [4, 8]. Сочетание приёма экстракта левзеи сафроловидной с дозированной физической нагрузкой приводит к нормализации концентрации лактата и пирувата в крови [6].

Для сухих извлечений левзеи сафроловидной и элеутерококка колючего было установлено, что 2,5% генов, регулируемых адаптогенами, тесно связаны с сигнальными путями адаптивной реакции, включая нейрональную регуляцию, продукцию кортикотропин-рилизинг-гормона, мелатонин-

ергические пути, ренин-ангиотензиновую систему и др. [7].

Характерным для всех представленных выше растительных адаптогенов механизмом действия является облегчение экспрессии специфических защитных белков-шаперонов, а именно белков теплового шока HSP70, HSP72. Актопротекторная активность фитоадаптогенов связана с их способностью защищать мембраны клеток от повреждения активными формами кислорода, увеличивать производство АТФ в условиях повышенной физической работоспособности, препятствовать развитию митохондриальной дисфункции [2, 7].

Выводы

1. Определены эффективные дозы сухих экстрактов фитоадаптогенов: для сухого экстракта элеутерококка колючего — 50 мг/кг, левзеи сафроловидной — 10 мг/кг и лимонника китайского — 25 мг/кг.

2. Установлено, что сухие экстракты изученных адаптогенов в наиболее эффективных дозах статистически достоверно увеличивали физическую работоспособность мышей: в 2,6 раза для элеутерококка колючего; 2,1 раза для левзеи сафроловидной и 1,5 раза для лимонника китайского.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Биомедицинское (доклиническое) изучение лекарственных средств, влияющих на физическую работоспособность: методические рекомендации. Под ред. Н.Н. Каркищенко. М.: ФМБА России; 2017. [*Biomeditsinskoe (doklinicheskoe) izuchenie lekarstvennykh sredstv, vliyayushchikh na fizicheskuyu rabotosposobnost': metodicheskie rekomendatsii*]. Ed. by N.N. Karkisichenko. Moscow: FMBA of Russia Publ.; 2017. (In Russian)].
2. Оковитый С.В., Шустов Е.Б., Болотова В.Ц. *Работоспособность. Утомление. Коррекция*. М.: КНОРУС; 2019. [Okovityi S.V., Shustov E.B., Bolotova V.Ts. *Rabotosposobnost'. Utomlenie. Korrektsiya*]. Moscow: KNORUS Publ.; 2019. (In Russian)].
3. Радько С.В., Гусев К.А., Краснова М.В., Оковитый С.В. *Устройство для крепления груза к мелким лабораторным животным*. Патент РФ на полезную модель № 172475 U1, 2017. [Rad'ko S.V., Gusev K.A., Krasnova M.V., Okovityi S.V. *Ustroystvo dlya krepneniya gruzа k melkim laboratornym zhivotnym*]. Patent for utility model of RF No. 172475 U1, 2017. (In Russian)].
4. Шулькин А.В., Якушева Е.Н., Давыдов В.В., Дармограй В.Н. Современные представления о фармакодинамике экистероидов. *Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова*. 2012;20(4):164–169. [Shchulkin A.V., Yakusheva E.N., Davydov V.V., Darmograi V.N. *Sovremennye predstavleniya o farmakodinamike ekdisteroidov*]. New concepts of pharmacodynamics of ecdysteroids]. *Rossiyskiy mediko-biologicheskii vestnik im. akad. I.P. Pavlova*. 2012;20(4):164–169. [Shchulkin A.V., Yakusheva E.N., Davydov V.V., Darmograi V.N. *Sovremennye predstavleniya o farmakodinamike ekdisteroidov*]. New concepts of pharmacodynamics of ecdysteroids]. *Rossiyskiy mediko-biologicheskii vestnik im. akad. I.P. Pavlova* [I.P. Pavlova Russian Medical Biological Herald]. 2012;20(4):164–169. (In Russian)]. DOI: 10.17816/PAVLOVJ20124164-169.
5. Li X., Chen C., Leng A., Qu J. Advances in the extraction, purification, structural characteristics and biological activities of *Eleutherococcus senticosus* polysaccharides: A promising medicinal and edible resource with development value. *Front. Pharmacol.* 2021;12:753007. DOI: 10.3389/fphar.2021.753007.
6. Lu Y.C. Lipid peroxide, membrane fluidity of smooth muscle cells and atherosclerosis. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*. 1993;22(1):42–45.
7. Panossian A., Seo E.J., Efferth T. Novel molecular mechanisms for the adaptogenic effects of herbal extracts on isolated brain cells using systems biology. *Phytomedicine*. 2018;50:257–284. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.09.204.
8. Roumanille R., Vernus B., Briche T., Descosy V., Van Ba C.T., Campredon S., Philippe A.G., Delobel P., Bertrand-Gaday C., Chopard A., Bonniou A., Py G., Faça-Berthon P. Acute and chronic effects of *Rhaponticum carthamoides* and *Rhodiola rosea* extracts supplementation coupled to resistance exercise on muscle protein synthesis and mechanical power in rats. *J. Int Soc. Sports Nutr.* 2020;17(1):58. DOI: 10.1186/s12970-020-00390-5.
9. Xiao Z., Xiao W., Li G. Research progress on the pharmacological action of schisantherin A. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2022;2022:6420865. DOI: 10.1155/2022/6420865.
10. Zhou Y., Men L., Sun Y., Wei M., Fan X. Pharmacodynamic effects and molecular mechanisms of lignans from *Schisandra chinensis* Turcz. (Baill.), a current review. *Eur. J. Pharmacol.* 2021;892:1737–1796. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173796.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Алексеева Юлия Сергеевна*, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;

e-mail: julija.alekseeva@pharminnotech.com

Yuliya S. Alekseeva*, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;

e-mail: julija.alekseeva@pharminnotech.com

Мещерякова Юлия Никитична, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;

e-mail: yuliya.meshcheryakova@spcpu.ru

Yuliya N. Meshcheryakova, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;

e-mail: yuliya.meshcheryakova@spcpu.ru

Шмакова Яна Витальевна, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;

e-mail: yana.shmakova@spcpu.ru

Yana V. Shmakova, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;

e-mail: yana.shmakova@spcpu.ru

Болотова Вера Цезаревна, к.фарм.н., доц., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;

e-mail: vera.bolotova@pharminnotech.com

Vera Ts. Bolotova, Cand. Sci. (Pharm.), Assoc. Prof., Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;

e-mail: vera.bolotova@pharminnotech.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-104-108>



ВЛИЯНИЕ ЯНТАРНОЙ СОЛИ ФУМАРОВОГО ЭФИРА ДИЭТИЛЭТАНОЛАМИНА НА КОГНИТИВНЫЕ СПОСОБНОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

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

Изучено влияние янтарной соли фумарового эфира диэтилэтанолamina на когнитивные способности мышей-самцов линии СВА и белых беспородных крыс-самцов. Установлено, что исследуемое вещество в дозах 10 и 75 мг/кг в тесте «Экстраполяционное избавление» оказывает положительное действие на кратковременную и долговременную память животных, способствуя сохранению и воспроизведению полученной информации. В тесте «Т-лабиринт» янтарная соль фумарового эфира диэтилэтанолamina в обеих дозах превосходила, а в тесте «Экстраполяционное избавление» — оказала сопоставимый эффект с эталонным препаратом сравнения пирацетамом (доза 900 мг/кг).

Ключевые слова: когнитивные функции, янтарная соль фумарового эфира диэтилэтанолamina, память, ноотропный эффект

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Болотова В.Ц., Титович И.А., Шустов Е.Б. Влияние янтарной соли фумарового эфира диэтилэтанолamina на когнитивные способности лабораторных животных. *Биомедицина*. 2022;18(3):104–108. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-104-108>

Поступила 05.04.2022

Принята после доработки 11.04.2022

Опубликована 10.09.2022

EFFECT OF THE SUCCINIC SALT OF DIETHYLETHANOLAMINE FUMAR ESTER ON COGNITIVE FUNCTIONS OF LABORATORY ANIMALS

Vera Ts. Bolotova*, Irina A. Titovich, Evgeniy B. Shustov

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Professora Popova Str., 14, lit. A

The effect of succinic salt of diethylethanolamine fumaric ester on the cognitive abilities of male CBA mice and outbred male rats was studied. It was found that the test substance at doses of 10 and 75 mg/kg in the “Extrapolation escape task” test has a positive effect on the short-term and long-term memory of animals, contributing to the preservation and reproduction of the information received. In the “T-maze” test, the succinic salt of diethylethanolamine fumaric ester in both doses was superior, and in the “Extrapolation escape task” test, it had a comparable effect with the reference drug piracetam (dose 900 mg/kg).

Keywords: cognitive functions, succinic salt of diethylethanolamine fumaric ester, memory, nootropic effect

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

For citation: Bolotova V.Ts., Titovich I.A., Shustov E.B. Effect of the Succinic Salt of Diethylethanolamine Fumar Ester on Cognitive Functions of Laboratory Animals. *Journal Biomed*. 2022;18(3):104–108. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-104-108>

Submitted 05.04.2022

Revised 11.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Нарушение когнитивных функций является одним из наиболее распространённых неврологических расстройств. Для лечения когнитивных нарушений в медицинской практике широко используются ноотропные препараты, которые устраняют нарушения речи, когнитивные расстройства, сниженную психическую и двигательную активности [1], оказывают нейропротекторное действие.

В качестве потенциальных ноотропов большой интерес представляют прекурсоры ацетилхолина, в частности, производные диэтиламиноэтанола, оптимизирующие холинергическую передачу, участвующую в механизмах формирования долговременной памяти [3].

Цель исследования — изучение влияния янтарной соли фумарового эфира диэтилэтанолamina на когнитивные способности лабораторных животных в тестах «Т-лабиринт» и «Экстраполяционное избегание».

Материалы и методы

Когнитивные функции лабораторных животных оценивали на белых беспородных крысах-самцах массой 200–250 г ($n=40$) в тесте «Экстраполяционное избегание» (ЭПИ), а в тесте «Т-лабиринт» — на мышах-самцах линии СВА массой 18–22 г ($n=60$), в соответствии с приказом Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики», согласно утверждённому письменному протоколу. Животные были получены из ФГУП ПЛЖ «Рапполово» (Ленинградская обл., Россия), прошли необходимый карантин и содержались в стандартных условиях сертифицированного вивария на обычном пищевом рацио-

не, со свободным доступом к воде и корму. Лабораторные животные были рандомизированы на 4 равные группы: группы 1 и 2 получали янтарную соль фумарового эфира диэтилэтанолamina (ФДЭС), синтезированную на кафедре органической химии СПХФУ, в дозе 10 и 75 мг/кг соответственно, группа 3 получала референсный препарат-ноотроп пирацетам («USB Pharma S.A.», Бельгия) в дозе 900 мг/кг, группа 4 — эквивалентное количество воды. Препараты вводили однократно внутривентрикулярно за 1 ч до начала процедуры обучения.

Тест ЭПИ («НПК Открытая Наука», Россия) используется для выявления влияния фармакологических агентов на мнестические функции крыс [4]. Животное помещали в установку, включали секундомер и фиксировали латентный период начала реакций и латентный период подныривания. После подныривания или по истечении 2 мин вынимали животных из воды и обсушивали. Сохранение навыка избегания от водной среды проверяли через 14 дней. Препараты или воду вводили ежедневно внутривентрикулярно в течение 5 дней во время обучения в ЭПИ.

Тест «Т-образный лабиринт с пищевым подкреплением» («НПК Открытая Наука», Россия) позволяет оценить рабочую память грызунов. Мышь помещали в Т-лабиринт, где в конце обоих «рукавов» находилось вознаграждение в виде корма. Животному давалось время выбрать рукав и съесть корм. Выбранный рукав впоследствии обозначался как «неправильный» и закрывался перегородкой на время обучения. В следующие 5 дней проводили обучение животных, в ходе которого ежедневно в серии из 10 попыток животное могло пройти в рукав, где находился корм. Тесты по оценке памяти проводились на 1-й, 5-й и 10-й день после окончания обучения. Фиксировали коли-

чество посещений «правильного» и «неправильного» рукава в серии из 10 попыток. Критерием оценки обучаемости было осуществление более 8 заходов в «правильный» рукав в ходе 10 попыток [5]. Препараты или воду вводили ежедневно внутривентрикулярно в течение 5 дней во время обучения в Т-лабиринте.

Статистическая обработка результатов исследований осуществлялась методом однофакторного (тест ANOVA) дисперсионного анализа в пакете статистического анализа данных табличного процессора Excel for Windows («Microsoft Corp.», США). Числовые данные, приводимые в таблице, представлены в виде: среднее арифметическое (M) \pm стандартная ошибка среднего (m). Уровень доверительной вероятности был задан равным 95%.

Результаты исследований

В тесте «Т-лабиринт» (табл. 1) было установлено, что 100% животных контрольной группы не сохранили навык выбора «правильного» рукава. При введении пирацетама 28,5% ($p < 0,05$) мышей смогли избрать «верный» рукав в 1-й и 5-й день исследования. В группах мышей, которые получали исследуемое вещество (10 и 75 мг/кг), количество обученных животных соответственно составило 50% ($p < 0,05$) и 87,5% ($p < 0,05$) в 1-й день, 62,5% ($p < 0,05$) и 87,5% ($p < 0,05$) — в 5-й день, а к 10-му дню 50%

($p < 0,05$) мышей в обеих группах сохранили навык выбора «правильного» рукава.

Пирацетам в условиях однократного введения оказывал слабое стимулирующее действие на процессы обучения животных и закрепления в памяти результатов обучения. Эффективность ФДЭС в обеих исследованных дозах существенно повышала эффективность обучения, запоминания и воспроизведения информации у животных. При этом выявленный эффект является дозозависимым, но не пропорциональным, т. к. увеличение дозы ФДЭС в 7,5 раз вело к усилению эффекта на 25–35% с нивелированием разницы к 10-му дню.

Далее изучали влияние ФДЭС на формирование и воспроизведение памятного следа в тесте ЭП. Установлено, что в контрольной группе латентное время решения экстраполяционной задачи увеличивалось в 1,7 раза; количество крыс, решивших экстраполяционную задачу, уменьшалось на 10% по сравнению с исходным уровнем (табл. 2).

В группе животных, которым вводили пирацетам, после завершения обучения наблюдали статистически значимое улучшение когнитивных функций — снижение времени подныривания в 2,3 раза, а спустя 2 недели приёма препарата — повышение на 20% количества крыс, которые смогли выполнить экстраполяционную задачу.

ФДЭС (10 и 75 мг/кг) способствует повышению когнитивных функций живот-

Таблица 1. Влияние ФДЭС на когнитивные функции в тесте «Т-лабиринт», $n=15$

Table 1. The effect of the succinic salt of diethylethanolamine fumaric ester on cognitive functions in a T-maze test, $n=15$

Группа	Количество животных, сохранившие навык выбора «правильного» рукава после окончания обучения, %		
	1-й день	5-й день	10-й день
Контроль	0,0	0,0	0,0
Пирацетам, 900 мг/кг	28,5*	28,5*	0,0
ФДЭС, 10 мг/кг	50,0*	62,5*	50,0*
ФДЭС, 75 мг/кг	87,5*	87,5*	50,0*

Примечание: * – отличия от контрольной группы статистически значимы, $p < 0,05$.

Note: * – differences from the control group are statistically significant, $p < 0.05$.

Таблица 2. Влияние 14-дневного перорального введения ФДЭС на формирование и воспроизведение памятного следа в тесте ЭПИ (n=15)

Table 2. The effect of a 14-day oral administration of the succinic salt of diethylethanolamine fumaric ester on the formation and reproduction of a memory trace in an Extrapolation Escape Task test (n=15)

Группа	Латентный период подныривания, M±m, мин		Доля животных, решивших экстраполяционную задачу, %	
	После обучения	Через 14 дней	Исходно	Через 14 дней
Контроль	1,28±0,17	1,82±0,20	70	60
Пирацетам, 900 мг/кг	0,57±0,18*	0,27±0,03*	70	90
ФДЭС, 10 мг/кг	0,58±0,18*	0,35±0,08*	70	90
ФДЭС, 75 мг/кг	0,52±0,15*	0,18±0,05*	70	80

Примечание: * – статистически значимые отличия от соответствующего показателя контрольной группы (критерий Уилкоксона – Манна – Уитни, $p < 0,05$).

Note: * – statistically significant differences from the corresponding indicator of the control group (Wilcoxon – Mann – Whitney criterion, $p < 0,05$).

ных сопоставимо с действием пирацетама, но реализуется в существенно более низкой дозе.

Обсуждение результатов

Входящий в состав разработанного препарата диэтиламиноэтанол обеспечивает синтез ацетилхолина и фосфатидилхолина нейрональных мембран, стимулирует холинергическую нейротрансмиссию, улучшает пластичность нейрональных мембран, обладает антиоксидантным действием [3]. Янтарная кислота оказывает антигипоксическое действие в условиях острой гипоксии, а фумаровая кислота — в условиях выраженной гипоксии [3]. В сумме перечисленные плейотропные эффекты ФДЭС обеспечивают повышение концентрации внимания, запоминание

и воспроизведение полученной информации, оптимизируют познавательные и поведенческие реакции [2].

Выводы

1. Янтарная соль фумарового эфира диэтилэтаноламина способствует сохранению и воспроизведению полученной информации.
2. В тесте «Т-лабиринт» янтарная соль фумарового эфира диэтилэтаноламина в обеих дозах превосходила, а в тесте «Экстраполяционное избавление» — оказала сопоставимый эффект с эталонным препаратом сравнения пирацетамом (доза 900 мг/кг).
3. Статистически значимых различий по влиянию на когнитивные функции янтарной соли фумарового эфира диэтилэтаноламина в дозах 10 и 75 мг/кг выявлено не было.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Когнитивные расстройства у лиц пожилого и старческого возраста: Клинические рекомендации МЗ РФ. М.; 2020. [Kognitivnye rasstroystva u lits pozhilogo i starcheskogo vozrasta: Klinicheskie rekomendatsii MZ RF [Cognitive disorders in the elderly and senile: Clinical recommendations of the Ministry of Health Care of Russia]. Moscow; 2020. (In Russian)].
2. Оковитый С.В., Шустов Е.Б., Болотова В.Ц., Титович И.А. Нейропротекторное средство на основе бис{2-[(2e)-4-гидрокси-4-оксобут-2-еноилок-си]-n,n-диэтилэтаноламина} бутандиоата. Патент на изобретение № 2588365. М.; 2016. [Okovityj S.V., Shustov E.B., Bolotova V.Ts., Titovich I.A. Neyroprotektornoe sredstvo na osnove bis{2-[(2e)-4-gidroksi-4-oksobut-2-enoyloxy]-n,n-diethylethanolaminium} butanedioata. [Neuroprotective agent based on bis{2-[(2e)-4-hydroxy-4-oxobut-2-enoyloxy]-n,n-diethylethanolaminium} butanedioate]. Invention Patent No 2588365. Moscow; 2016. (In Russian)].

3. Сысоев Ю.И., Титович И.А., Оковитый С.В., Лалаев Б.Ю., Болотова В.Ц., Кимаев А.Н., Загладкина Е.В. Производные этаноламина как нейропротекторные средства. *Фармация*. 2019;68(1):48-55. [Sysoev Ju.I., Titovich I.A., Okovi-tyj S.V., Lalaev B.Yu., Bolotova V.Ts., Kimaev A.N., Zagladkina E.V. Proizvodnye etanolamina kak neyroprotektornye sredstva. [Ethanolamine derivatives as neuroprotective agents]. *Pharmacy*. 2019;68(1):48-55. (In Russian)]. DOI: 10.29296/25419218-2019-01-07.
4. Bondarenko N.A. Anxiety and the problem of «inattentive» animals in water maze tests. *The Russian Journal of Cognitive Science*. 2017;4(4):45-51.
5. Deacon R.M., Rawlins J.N. T-maze alternation in the rodent. *Nature protocols-electronic edition*. 2006;1(1):7. DOI: 10.1038/nprot.2006.2.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Болотова Вера Цезаревна*, к.фарм.н., доц., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» 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

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ПРОПАНДИОВОЙ КИСЛОТЫ С КАРДИОТРОПНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Д.Ю. Ивкин^{1,2,*}, А.А. Карпов¹

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России
197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А

²ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена»
191186, Российская Федерация, Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, 48

Проведён полный цикл доклинических исследований 4-[(3-этокси-3-оксoproпаноил)амино]бензойной кислоты (этмабен), обладающей кардиотропным действием. Изучены потенциальный механизм действия и фармакологические эффекты, общетоксическое действие в остром и хроническом экспериментах, специфические виды токсичности (аллергенность, иммунотоксичность, репродуктивная токсичность, мутагенность), фармакокинетики. Препарат обладает выраженным кардиотропным эффектом и положительным профилем безопасности, что позволяет перейти к 1-й фазе клинических исследований.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, этмабен, эффективность, безопасность

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Ивкин Д.Ю., Карпов А.А. Экспериментальная оценка эффективности и безопасности нового производного пропандиовой кислоты с кардиотропным действием. *Биомедицина*. 2022;18(3):109–112. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-109-112>

Поступила 08.04.2022

Принята после доработки 11.04.2022

Опубликована 10.09.2022

EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS AND SAFETY OF A NEW PROPANDIC ACID DERIVATIVE EXHIBITING CARDIOTROPIC ACTION

Dmitry Yu. Ivkin^{1,2,*}, Andrey A. Karpov¹

¹Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Professora Popova Str., 14, lit. A

²The Herzen State Pedagogical University of Russia
191186, Russian Federation, Saint Petersburg, Embankment of the Moika River, 48

An entire cycle of preclinical studies of 4-[(3-ethoxy-3-oxopropanoyl)amino]benzoic acid (etmaben) exhibiting cardiotropic action was carried out. Its potential action mechanism and pharmacological effects, general toxic effects in acute and chronic experiments, specific types of toxicity (allergenicity, immunotoxicity, reproductive toxicity, mutagenicity), and pharmacokinetics were studied. The drug was found to have a pronounced cardiotropic effect and a positive safety profile, which justifies the launch of phase I clinical trials.

Keywords: heart failure, etmaben, effectiveness, safety

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

For citation: Ivkin D. Yu., Karpov A. A. Experimental Evaluation of the Effectiveness and Safety of a New Propanoic Acid Derivative Exhibiting Cardiotropic Action. *Journal Biomed.* 2022;18(3):109–112. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-109-112>

Submitted 08.04.2022

Revised 11.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

4-[(3-этокси-3-оксопропаноил)амино] бензойная кислота (этмабен) является перспективным фармакологическим агентом, у которого ранее была выявлена кардиотропная активность на модели хронической сердечной недостаточности [1]. Для вывода изученного соединения на 1-ю фазу клинических исследований (КИ) было необходимо провести полный цикл доклинических исследований, включающих, помимо фармакодинамических испытаний, оценку общей и специфической токсичности и определение основных фармакокинетических параметров на грызунах и негрызунах при различных путях введения.

Целью работы было получение полного пула информации о доклинических испытаниях безопасности, фармакодинамики и фармакокинетики препарата в виде активной фармацевтической субстанции и готовой лекарственной формы (табл., 60 мг) для формирования брошюры исследователя и плана-протокола 1-й фазы КИ.

Материалы и методы

Все животные были получены из ФГУП ПЛЖ «Рапполово» (Ленинградская обл.) и содержались в условиях 12/12-часового свето-темнового режима и получали стандартный корм и питьевую воду *ad libitum*. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных це-

лей (Страсбург, 1986), Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях, ГОСТом 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными». Применялись Правила оборудования помещений и организации процедур» от 01.07.2016. Исследования были одобрены биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России. На грызунах и негрызунах (кролики) проведены исследования общих и специфических видов токсичности (безопасность), фармакодинамики (фармакологические эффекты и возможные механизмы их реализации) и фармакокинетики этмабена.

Результаты исследований

Специфическая активность была исследована на модели ишемического повреждения миокарда путём перевязки левой коронарной артерии, что приводит к формированию инфаркта миокарда и развитию в дальнейшем хронической сердечной недостаточности [2, 3]. Для оценки морфофункциональных параметров миокарда использовали методы электрокардиографии, эхокардиографии, биохимические и патоморфологические методы. Установлена способность исследуемого фармакологического агента при экспериментальной постинфарктной сердечной недостаточности уменьшать конечные систолический и диастолический размеры левого желудочка, увеличивать фракцию выброса, предотвращать гипертрофию миокарда, препятство-

вать формированию нарушений кровотока в лёгочной артерии. На фоне введения препарата не наблюдали образования тромбов, аневризмы, явлений асинергии и акинезии миокарда.

На модели стабилизации-ишемии-реперфузии по Лангендорфу влияние изучаемого соединения и препаратов сравнения на сократительную функцию миокарда распределилось следующим образом: инфаркт миокарда без лечения < триметазидин < этмабен (внутрижелудочно, ВЖ) < ложнооперированные (здоровые) животные < мельдоний (внутрибрюшинно, ВБ) + ВЖ < этмабен (ВБ + ВЖ). Максимально эффективным оказалось сочетание инициальной (ВБ) и поддерживающей (ВЖ) терапии этмабеном, а положительная динамика сохранялась после окончания введения препарата минимум 1 мес.

Безопасность этмабена изучена в остром и хроническом экспериментах. Полученные значения ЛД₅₀ на двух видах животных разного пола при двух путях введения позволяют отнести вещество к соединениям с малой токсичностью. Величины ЛД₅₀ превышали 2000 мг/кг. Длительное (16 недель) введение препарата не приводило к изменениям состава периферической крови, биохимических параметров, показателей гемостаза, клинических параметров мочи. На фоне введения этмабена не изменялась масса тела, показатели сердечно-сосудистой, мочевыделительной и центральной нервной систем. Патоморфологические и гистологические исследования не выявили повреждающего действия на органы и ткани экспериментальных животных. Отсроченные токсические эффекты отсутствовали. Препарат не обладал аллергенностью, не оказывал влияния на иммунную

систему организма, не продемонстрировал повреждающего действия на генеративную функцию самцов и самок, эмбриотоксического и тератогенного действия, не повлиял на развитие потомства; не обладал мутагенными свойствами.

При исследовании фармакокинетики было проведено сравнение внутривенного и перорального (внутрижелудочного) введения препарата кроликам. Установлено, что биодоступность препарата при внутрижелудочном введении составляет 73%, значения общего клиренса для внутривенного и внутрижелудочного введения совпадают. В случае внутрижелудочного введения максимальная концентрация активного вещества в плазме крови достигается через 56±21 мин. Период полувыведения при внутривенном введении составил 17±1 мин, в случае внутрижелудочного введения — 159±39 мин. Двумя независимыми методами (ГХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС) установлен только один метаболит — продукт деэтилирования — 4-[(карбоксиацетил)амино]бензойная кислота. В крови метаболит не обнаружен, в то время как в моче его концентрация со временем возрастала.

Заключение

Проведены исследования полного цикла доклинических исследований, включающие оценку безопасности и специфической активности *in vitro* и *in vivo*, в т. ч. исследования потенциального механизма действия и фармакологических эффектов, общетоксического действия в остром и хроническом экспериментах, специфических видов токсичности (аллергенность, иммунотоксичность, репродуктивная токсичность, мутагенность), фармакокинетики, позволяющие перейти к 1-й фазе КИ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Ивкин Д.Ю., Карпов А.А., Драчева А.В. и др. Влияние производного бензойной кислоты на формирование экспериментальной хронической сердечной недостаточности. *Фармация*. 2016;63(4):49–52. [Ivkin D.Yu., Karpov A.A., Dracheva A.V., et al. Vliyaniye proizvodnogo benzoynoy kisloty na formirovaniye eksperimental'noy khronicheskoy serdechnoy nedostatochnosti [Effect of a benzoic acid derivative on the development of experimental chronic heart failure]. *Pharmacy*. 2016;63(4):49–52. (In Russian)].
2. Казаченко А.А., Оковитый С.В., Куликов А.Н. и др. Экспериментальное моделирование хронической сердечной недостаточности. *Биомедицина*. 2013;3:41–48. [Kazachenko A.A., Okovityj S.V., Kulikov A.N., et al. Eksperimental'noye modelirovaniye khronicheskoy serdechnoy nedostatochnosti [Experimental modeling of chronic heart insufficiency]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2013;3:41–48. (In Russian)].
3. Карпов А.А., Ивкин Д.Ю., Драчева А.В. и др. Моделирование постинфарктной сердечной недостаточности путём окклюзии левой коронарной артерии у крыс: техника и методы морфофункциональной оценки. *Биомедицина*. 2014;3:32–48. [Karpov A.A., Ivkin D.Yu., Dracheva A.V., et al. Modelirovaniye postinfarktnoy serdechnoy nedostatochnosti putem okklyuzii levooy koronarnoy arterii u krysov: tekhnika i metody morfofunktsional'noy otsenki [Rat model of post-infarct heart failure by left coronary artery occlusion: Technical aspects, functional and morphological assessment]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2014;3:32–48. (In Russian)].

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ивкин Дмитрий Юрьевич*, к.б.н., доц., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена»;
e-mail: dmitry.ivkin@pharminnotech.com

Dmitry Yu. Ivkin*, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia, The Herzen State Pedagogical University of Russia;
e-mail: dmitry.ivkin@pharminnotech.com

Карпов Андрей Александрович, к.м.н., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: a--karpoff@mail.ru

Andrey A. Karpov, Cand. Sci. (Med.), St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: a--karpoff@mail.ru

Шустов Евгений Борисович, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: shustov-msk@mail.ru

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

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА *SACCHARINA LATISSIMA* НА ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ КРЫС ПОСЛЕ ОТРАВЛЕНИЯ КАРБЕНДАЗИМОМ

М.В. Мельникова^{1,*}, В.А. Кашуро^{2,3}, Е.Г. Батоцыренова^{1,2}, Л.Г. Кубарская¹,
Е.А. Золотоверхая¹, Т.А. Колбасова¹, О.А. Вакуненко¹, А.С. Гладчук¹

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

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

³ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена»
191186, Российская Федерация, Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, 48

Экспериментальное исследование показателей антиоксидантной системы у крыс после подострого отравления карбендазимом и фармакологической коррекции внутрижелудочным введением экстракта *Saccharina latissima* в дозе 250 мг/кг в течение 14 дней позволило установить, что применение исследуемого экстракта снижает активность процессов перекисного окисления липидов и способствует нейтрализации перекиси водорода.

Ключевые слова: *Saccharina latissima*, антиоксидантная активность, перекисное окисление липидов, карбендазим

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Мельникова М.В., Кашуро В.А., Батоцыренова Е.Г., Кубарская Л.Г., Золотоверхая Е.А., Колбасова Т.А., Вакуненко О.А., Гладчук А.С. Влияние экстракта *Saccharina latissima* на показатели антиоксидантной системы крови крыс после отравления карбендазимом. *Биомедицина*. 2022;18(3):113–117. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-113-117>

Поступила 29.03.2022

Принята после доработки 11.04.2022

Опубликована 10.09.2022

EFFECT OF *SACCHARINA LATISSIMA* EXTRACT ON THE ANTIOXIDANT PARAMETERS OF RAT BLOOD AFTER EXPOSURE TO CARBENDAZIM

Margarita V. Melnikova^{1,*}, Vadim A. Kashuro^{2,3}, Ekaterina G. Batotsyrenova^{1,2},
Larisa G. Kubarskaya¹, Ekaterina A. Zolotoverkhaia¹, Taisiia A. Kolbasova¹,
Olga A. Vakunenkova¹, Aleksey S. Gladchuk¹

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

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

³Herzen State Pedagogical University of Russia
191186, Russian Federation, Saint Petersburg, Embankment of the Moika River, 48

An experimental study of antioxidant parameters in rats after exposure to carbendazim was carried out to study the effect of their pharmacological correction by an intragastric administration of *Saccharina latissima* extract at a dose of 250 mg/kg for 14 days. The extract under study was found to reduce the activity of lipid peroxidation and promote the neutralization of hydrogen peroxide.

Keywords: *Saccharina latissima*, antioxidative activity, lipid peroxidation, carbendazim

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

For citation: Melnikova M.V., Kashuro V.A., Batotsyrenova E.G., Kubarskaya L.G., Zolotoverkhaia E.A., Kolbasova T.A., Vakunenkova O.A., Gladchuk A.S. Effect of *Saccharina latissima* Extract on the Antioxidant System Parameters of Rat Blood After Exposure to Carbendazim. *Journal Biomed.* 2022;18(3): 113–117. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-113-117>

Submitted 08.04.2022

Revised 11.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Ламинария *Saccharina latissima* — бурые водоросли арктического побережья России. В составе экстракта обнаружены фукоксантин, фукоксантинол, феофитин *a*, феофорбид *a*, а также другие каротиноиды и хлорофиллы, обладающие выраженным антиоксидантным действием [2].

Карбендазим — фунгицид, широко используемый в настоящее время, входит в международный список наиболее опасных пестицидов, даже в низких дозах проявляет гепатотоксическое действие, а также вызывает специфические изменения гематологических и биохимических показателей у крыс [4, 5].

Целью данного исследования явилось изучение влияния экстракта *Saccharina latissima* на антиоксидантную систему (АОС) крови крыс после отравления карбендазимом.

Материалы и методы

В исследовании были использованы белые беспородные крысы-самцы массой 200–220 г возрастом 3 мес., источник получения — филиал «Рапполово» НИЦ «Курчатовский институт» (Ленинградская обл.). Продолжительность карантина составила 14 дней. Животных содержали в стандартных условиях в соответствии

с ГОСТ 33215-2014 от 01.07.2016 и ГОСТ 33216–2014 от 01.07.2016. Протокол исследования был одобрен биоэтической комиссией ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России.

Выделение комплекса БАВ из водорослей *Saccharina latissima* осуществляли по оригинальной методике, разработанной в ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России [3]. Содержание фукоксантина в исследуемом экстракте составило 4%.

Моделирование подострого отравления проводили путём ежедневного внутрижелудочного введения лабораторным животным водного р-ра карбендазима в дозе 250 мг/кг на протяжении 28 дней, контрольной группе аналогичным образом вводили дистиллированную воду. Затем проводили фармакологическую коррекцию ежедневным внутрижелудочным введением экстракта *Saccharina latissima* в дозе 250 мг/кг в течение 14 дней. Забор крови у экспериментальных животных производили дважды: после отравления на 29-й день исследования и после фармакологической коррекции на 43-й день исследования.

Для проведения исследований использовали эритроцитарную взвесь, получаемую центрифугированием цельной крови при 3000 g на протяжении 3 мин с последующей трёхкратной отмывкой физ. р-ром. Из отмывых эритроцитов го-

товили гемолизаты, в которых определяли активность супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) на биохимическом анализаторе «А-25», используя коммерческие наборы фирмы «RanDox» (Великобритания). Определение активности глутатион-S-трансферазы (ГТ) проводили по методу W.H. Nabig и W.B. Jakoby. Для оценки процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в исследуемых гемолизатах определяли концентрацию диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА), концентрацию восстановленного глутатиона (ВГ) [1]. Концентрацию исследуемых продуктов и активность ферментов в гемолизате эритроцитов пересчитывали на 1 г гемоглобина.

Результаты исследований

Результаты исследований показателей системы АОЗ у животных при отравлении карбендазимом и фармакологической коррекции представлены в таблице.

Проведённое экспериментальное исследование позволило установить, что подострое

отравление карбендазимом сопровождалась повреждением липидов по свободнорадикальному механизму, о чём свидетельствует накопление в гемолизате эритроцитов продуктов ПОЛ – ДК и МДА. Так, в отравленной группе животных концентрация ДК достоверно возросла на 19,7%, а концентрация МДА — на 29,4% по сравнению с контрольной группой. В группе животных после отравления карбендазимом отмечалось повышение активности СОД на 30,8% ($p < 0,05$) и снижение активности ГТ на 33,6% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Выявлено снижение концентрации восстановленного глутатиона в группе отравленных животных на 14,5% по сравнению с контрольной группой. Данные изменения свидетельствуют об оксидативном стрессе в клетках крови и дисбалансе ферментативного звена АОС.

Курсовое применение экстракта *Saccharina latissima* для фармакологической коррекции позволило в разной степени скорректировать выявленный дисбаланс ферментативного звена АОС и снизить активность процессов ПОЛ. Так, концентрация ДК достоверно снижалась на 10,6%,

Таблица. Показатели АОС после введения карбендазима и фармакологической коррекции экстрактом *Saccharina latissima*

Table. Anti-oxidant parameters following carbendazim administration and pharmacological correction with *Saccharina latissima* extract

Параметры	Группа животных		
	Контроль	Карбендазим	<i>Saccharina latissima</i>
ВГ, мкмоль/гHb	11,42±0,28	9,75±0,36*	10,46±0,28
МДА, нмоль/гHb	9,54±0,85	12,34±1,11*	8,98±0,37#
ДК, нмоль/гHb	1,42±0,08	1,70±0,05*	1,52±0,03#
СОД, U/гHb	458,1±31,5	599,1±43,3*	491,4±10,9#
ГТ, U/гHb	85,4±5,7	57,6±6,3*	69,3±5,3
ГП, U/гHb	36,6±1,3	33,0±1,2	38,1±1,0#
Г-6-ФДГ, U/гHb	8,52±0,16	8,69±0,44	9,77±0,45

Примечания: * — достоверно по сравнению с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна–Уитни); # — достоверно по сравнению с группой отравленных животных (при $p \leq 0,05$; критерий Манна–Уитни).

Notes: * — compared to the control group (significance is reached at $p \leq 0,05$; Mann–Whitney test); # — compared to the group of poisoned animals (significance is reached at $p \leq 0,05$; Mann–Whitney test).

а МДА — на 27,2%. У животных данной группы активность СОД снижалась на 18,0% ($p < 0,05$). Активность глутатионпероксидазы достоверно нарастала и была выше на 15,5% по сравнению с группой без фармакологической коррекции. Активность Г-6-ФДГ незначительно возрастала по сравнению с контрольной группой и группой без фармакологической коррекции.

Выводы

При оценке показателей АОС и процессов ПОЛ у крыс после отравления карбендазимом и фармакологической коррекции экстрактом *Saccharina latissima* в дозе 250 мг/кг при курсовом введении было установлено, что применение исследуемого экстракта снижает активность процессов ПОЛ и сдвигает равновесие окислительно-восстановительных реакций в сторону нейтрализации перекиси водорода.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. 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. [Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Sharabanov A.V. Farmakologicheskaya korrektsiya otдалennykh posledstviy ostrogo tyazhelogo otravleniya tiopentalom natriya v usloviyakh khronicheskogo svetovogo desinkhronoza [Pharmacological correction of long-term effects of acute severe poisoning with sodium thiopental under chronic light desynchronization]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2021;17(3):23–28. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-17-3-23-28.
2. Краснов К.А., Гладчук А.С., Александрова М.Л., Кельдиева О.А., Зайцева М.А., Мельникова М.В., Рейнюк В.Л., Подольская Е.П. Изучение состава липидных пигментов беломорской водоросли *Saccharina latissima* методами ТСХ и МАЛДИ-МС. *Токсикологический вестник*. 2020;(5):50–56. [Krasnov K.A., Gladchuk A.S., Alexandrova M.L., Keltseva O.A., Zaytseva M.A., Melnikova M.V., Reinyuk V.L., Podolskaya E.P. Izuchenie sostava lipidnykh pigmentov belomorskoy vodorosli *Saccharina latissima* metodami TSKh i MALDI-MS [Study of the lipid pigment composition in the white sea algae *Saccharina latissima* using TLC and MALDI-MS]. *Toksikologicheskij vestnik [Toxicological Review]*. 2020;(5):50–56. (In Russian)]. DOI: 10.36946/0869-7922-2020-5-50-56.
3. Подосиновичева Н.П., Краснов К.А., Бондаренко А.А., Александрова М.Л., Зайцева М.А., Халаман В.В. Изучение токсичности и безопасности липофильных экстрактов беломорских бурых водорослей — фукуса пузырчатого и ламинарии сахаристой на модели *Daphnia magna* Straus. *Токсикологический вестник*. 2020;4:49–55. [Podosinovichkova N.P., Krasnov K.A., Bondarenko A.A., Alexandrova M.L., Zaytseva M.A., Khalaman V.V. Izuchenie toksichnosti i bezopasnosti lipofil'nykh ekstraktov belomorskikh burykh vodorosley — fukusa puzyrchatogo i laminarii sakharistoy na modeli *Daphnia magna* Straus [Studying the toxicity and safety of the lipophilic extracts of belomorian brown algae — fucus vesiculosus and saccharina latissima on the *Daphnia magna* Straus model]. *Toksikologicheskij vestnik [Toxicological Review]*. 2020;4:49–55. (In Russian)]. DOI: 10.36946/0869-7922-2020-4-49-55.
4. Muthuviveganandavel V., Muthuraman P., Muthu S., Sri Kumar K. Toxic effects of carbendazim at low dose levels in male rats. *J. Toxicol. Sci.* 2008;33(1):25–30. DOI: 10.2131/jts.33.25.
5. Selmanoglu G., Barlas N., Songür S., Koçkaya E.A. Carbendazim-induced haematological, biochemical and histopathological changes to the liver and kidney of male rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 2001;20(12):625–630. DOI: 10.1191/096032701718890603.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мельникова Маргарита Викторовна*, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: margarita10108@mail.ru

Margarita V. Melnikova*, Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: margarita10108@mail.ru

Кашуро Вадим Анатольевич, д.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России; ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена»;
e-mail: kashuro@yandex.ru

Vadim A. Kashuro, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health Care of Russia; Herzen State Pedagogical University of Russia;
e-mail: kashuro@yandex.ru

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

Ekaterina G. Batotsyrenova, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Golikov Research Clinical 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

Кубарская Лариса Георгиевна, к.б.н., ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: larkub@yandex.ru

Larisa G. Kubarskaya, Cand. Sci. (Biol.), Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: larkub@yandex.ru

Золотоверхая Екатерина Андреевна, к.б.н., ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: e.zolotoverkhaja@yandex.ru

Ekaterina A. Zolotoverkhaia, Cand. Sci. (Biol.), Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: e.zolotoverkhaja@yandex.ru

Колбасова Таисия Александровна, к.м.н., ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: tasia.pcma.le4@mail.ru

Taisiia A. Kolbasova, Cand. Sci. (Med.), Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: tasia.pcma.le4@mail.ru

Вакуненкова Ольга Александровна, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: volga-2303@yandex.ru

Olga A. Vakunenkova, Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: volga-2303@yandex.ru

Гладчук Алексей Сергеевич, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: aleglad24@gmail.com

Aleksey S. Gladchuk, Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: aleglad24@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



ЭКЗОГЕННЫЕ РНК КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ

С.В. Оковитый*, Е.Б. Шустов

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

Экзогенные РНК видонеспецифически изменяют передачу сигналов в тканях, регулируя экспрессию генов, что приводит к фенотипическим изменениям в клетках, а их применение может стать основой для новой тактики регуляторной профилактики и терапии различных заболеваний. Технологии экзогенных РНК являются перспективным подходом к созданию принципиально нового класса лекарственных препаратов или биологически активных добавок (для растительных экзогенных РНК) с широким спектром фармакологической активности и минимальным количеством побочных эффектов.

Ключевые слова: экзогенные РНК

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Оковитый С.В., Шустов Е.Б. Экзогенные РНК как потенциальные фармакологические агенты. *Биомедицина*. 2022;18(3):118–121. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-118-121>

Поступила 05.04.2022

Принята после доработки 11.04.2022

Опубликована 10.09.2022

EXOGENOUS RNAs AS POTENTIAL PHARMACOLOGICAL AGENTS

Sergey V. Okovityi*, 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

Exogenous RNAs alter interspecifically the transmission of signals in organisms by regulating the expression of their genes. This process leads to phenotypic cellular changes, thus representing a possible new tactic for the treatment of various diseases. Exogenous RNAs are a promising approach to the creation of a fundamentally new class of drugs or biologically active additives (for plant exogenous RNAs) with a promising pharmacological activity and minimal side effects.

Keywords: exogenous RNAs

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

For citation: Okovityi S.V., Shustov E.B. Exogenous RNAs as Potential Pharmacological Agents. *Journal Biomed*. 2022;18(2):118–121. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-118-121>

Submitted 05.04.2022

Revised 11.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

В 60-х гг. XX века было установлено, что РНК, выделенные из органов или отдельных клеток животных-доноров, могут индуцировать различные специфические эффекты в органах или клетках животных-реципиентов и направленно изменять фенотипические свойства клеток-мишеней [1, 13].

Среди преимуществ экзогенных РНК, как перспективных фармакотерапевтических агентов, можно отметить следующие [12, 17, 19]:

- возможность использования клеточными механизмами экзогенной матричной (мРНК) в качестве временного носителя генетической информации для синтеза белков;
- возможность экспрессии белка, опосредованной мРНК, при прямом введении *in vivo* (например, в мышцы);
- достижение эффективной экспрессии даже в неделящихся клетках, поскольку для проявления активности мРНК не требуется ядерная фаза;
- введение экзогенной мРНК представляет собой альтернативу ДНК-опосредованному синтезу белка *in vitro* и *in vivo*;
- использование мРНК вместо ДНК, как терапевтического агента, более привлекательно из-за отсутствия риска инсерционного мутагенеза;
- наличие надёжных методов эффективно-го введения РНК в различные клетки с использованием катионных липидов.

Достижения последних лет в технологии мРНК, включая модификацию самой мРНК, наряду с усовершенствованием средств доставки, изменили представления о перспективности и возможности использования мРНК в качестве потенциальных фармакотерапевтических агентов нового класса. Доклиническими исследованиями была продемонстрирована потенциальная возможность мРНК-терапии таких метаболических нарушений, как метилмалоновая ацидемия, острая перемежающаяся порфирия и болезнь Фабри [3, 6, 20].

Способность экзогенных РНК специфически воспроизводить эффекты определённых биологически активных веществ также имеет большое значение для экспериментальной фармакологии, т. к. служит основой для нового подхода к исследованию механизмов действия веществ, активирующих синтез РНК и белка, регулирующих внутриклеточные процессы [2, 18].

Учитывая, что экзогенные мРНК подвергаются быстрой деградации внеклеточными рибонуклеазами, успешность терапии с использованием таких фармакологических агентов в значительной степени зависит от наличия безопасного и эффективного средства доставки. Эффективным способом доставки является заключение мРНК в липидные наночастицы, обеспечивающие необходимый физический защитный барьер для доставки мРНК в клетки-мишени [14, 15].

Перспективы использования экзогенных РНК связаны также с предположением о функциональном значении микроРНК у человека. Такие небольшие некодирующие РНК могут связываться со своей комплементарной мРНК и подавлять эффекты экспрессии генов на посттранскрипционном уровне. Изучение потенциала таргетной терапии, опосредованной микроРНК, посредством межклеточной регуляции, в профилактике и лечении различных заболеваний является актуальным подходом, подтверждённым при таких заболеваниях, как атеросклероз, лимфома, сепсис и т. д. [9, 21].

Особые перспективы имеет использование растительных микроРНК, для которых показана способность проникать через желудочно-кишечный тракт млекопитающих в кровотоки, с последующей доставкой к биологическим мишеням, где они регулируют экспрессию генов млекопитающих [11, 16, 22]. Особую ценность имеет свойство микроРНК сохранять свою функциональность и стабильность даже тогда, когда

они перемещаются по желудочно-кишечному тракту. Их стабильность объясняется 2'-О-метилированием на их 3'-терминальном участке [5, 10] и высоким содержанием гуанин-цитозина в их последовательности [23]. Экспериментальные данные показали возможность регуляции экспрессии генов у мышей с помощью перорально вводимой экзогенной РНК, экстрагированной из риса: через 3 ч уровень miR-168a был повышен в сыворотке крови и печени. miR-168a и miR-156a, обнаруженные в рисе, снижали экспрессию в печени белка-адаптера рецептора липопротеинов низкой плотности 1 (LDLRAP1) путём связывания с его мРНК [22]. miR-156a, обнаруженные в листовых зелёных овощах, проникая в сис-

темный кровоток, могут подавлять адгезию моноцитов к эндотелиоцитам, индуцированную провоспалительными цитокинами [4]. Для некоторых микроРНК (например, miR-2911 из жимолости) продемонстрирована не только возможность проникать в кровоток из желудочно-кишечного тракта, но и способность подавлять у инфицированных животных репликацию вируса гриппа А [7, 8, 23].

Таким образом, применение экзогенных РНК является перспективным направлением создания принципиально нового класса лекарственных препаратов с широким спектром фармакологической активности и минимальным количеством побочных эффектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Белоус А.М., Годин В.П., Панков Е.Я. *Экзогенные нуклеиновые кислоты и восстановительные процессы*. М.: Медицина; 1974. [Belous A.M., Godin V.P., Pankov E.Ya. *Ekzogennye nukleinoverye kisloty i vosstanovitel'nye protsessy [Exogenous nucleic acids and reduction processes]*. Moscow: Medicina Publ.; 1974. (In Russian)].
2. Оковитый С.В. *Протеинсинтетические и иммунные механизмы защитно-репаративных эффектов гепатотропных средств*. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. СПб.; 1995. [Proteinsinteticheskie i immunnnye mekhanizmy zashchitno-reparativnykh effektivov gepatotropnykh sredstv [Protein synthesis and immune mechanisms of protective and reparative effects of hepatotropic agents]. Abstract of the thesis of Cand. Sci. (Med.). SPb.; 1995. (In Russian)].
3. An D., Schneller J.L., Frassetto A., Liang S., Zhu X., Park J.S., Theisen M., Hong S.J., Zhou J., Rajendran R., Levy B., Howell R., Besin G., Presnyak V., Sabnis S., Murphy-Benenato K.E., Kumarasinghe E.S., Salerno T., Mihai C., Lukacs C.M., Chandler R.J., Guey L.T., Venditti C.P., Martini P.G.V. Systemic messenger RNA therapy as a treatment for methylmalonic acidemia. *Cell Rep.* 2017;21(12):3548–3558. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.11.081.
4. Hou D., He F., Ma L., Cao M., Zhou Z., Wei Z., Xue Y., Sang X., Chong H., Tian C., Zheng S., Li J., Zen K., Chen X., Hong Z., Zhang C.Y., Jiang X. The potential atheroprotective role of plant MIR156a as a repressor of monocyte recruitment on inflamed human endothelial cells. *J. Nutr. Biochem.* 2018;57:1197–205. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2018.03.026.
5. Ji L., Chen X. Regulation of small RNA stability: Methylation and beyond. *Cell Res.* 2012;22(4):624–636. DOI: 10.1038/cr.2012.36.
6. Jiang L., Berraondo P., Jericó D., Guey L.T., Sampedro A., Frassetto A., Benenato K.E., Burke K., Santamaria E., Alegre M., Pejenaute Á., Kalariya M., Butcher W., Park J.S., Zhu X., Sabnis S., Kumarasinghe E.S., Salerno T., Kenney M., Lukacs C.M., Avila M.A., Martini P.G.V., Fontanellas A. Systemic messenger RNA as an etiological treatment for acute intermittent porphyria. *Nat. Med.* 2018;24(12):1899–1909. DOI: 10.1038/s41591-018-0199-z.
7. Li J., Zhang Y., Li D., Liu Y., Chu D., Jiang X., Hou D., Zen K., Zhang C.Y. Small non-coding RNAs transfer through mammalian placenta and directly regulate fetal gene expression. *Protein Cell.* 2015;6(6):391–396. DOI: 10.1007/s13238-015-0156-2.
8. Li Z., Xu R., Li N. MicroRNAs from plants to animals, do they define a new messenger for communication? *Nutr. Metab. (Lond)*. 2018;15:68. DOI: 10.1186/s12986-018-0305-8.
9. Liang H., Huang L., Cao J., Zen K., Chen X., Zhang C.Y. Regulation of mammalian gene expression by exogenous microRNAs. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA.* 2012;3(5):733–742. DOI: 10.1002/wrna.1127.
10. Liang H., Zen K., Zhang J., Zhang C.Y., Chen X. New roles for microRNAs in cross-species communication. *RNA Biol.* 2013;10(3):367–370. DOI: 10.4161/rna.23663.
11. Lukasik A., Brzozowska I., Zielenkiewicz U., Zielenkiewicz P. Detection of plant miRNAs abundance in human breast milk. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;19(1):37. DOI: 10.3390/ijms19010037.
12. Malone R.W., Felgner P.L., Verma I.M. Cationic liposome-mediated RNA transfection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1989;86(16):6077–6081. DOI: 10.1073/pnas.86.16.6077.

13. Martini P.G.V., Guey L.T. A new era for rare genetic diseases: messenger RNA therapy. *Hum. Gene Ther.* 2019;30(10):1180–1189. DOI: 10.1089/hum.2019.090.
14. Patel S., Ashwanikumar N., Robinson E., DuRoss A., Sun C., Murphy-Benenato K.E., Mihai C., Almarsson Ö., Sahay G. Boosting intracellular delivery of lipid nanoparticle-encapsulated mRNA. *Nano Lett.* 2017;17(9):5711–5718. DOI: 10.1021/acs.nanolett.7b02664.
15. Sabnis S., Kumarasinghe E.S., Salerno T., Mihai C., Ketova T., Senn J.J., Lynn A., Bulychev A., McFadyen I., Chan J., Almarsson Ö., Stanton M.G., Benenato K.E. A novel amino lipid series for mRNA delivery: improved endosomal escape and sustained pharmacology and safety in non-human primates. *Mol. Ther.* 2018;26(6):1509–1519. DOI: 10.1016/j.ymthe.2018.03.010.
16. Saquib M., Agnihotri P., Mon U., Biswas S. Exogenous miRNA: A perspective role as therapeutic in rheumatoid arthritis. *Curr. Rheumatol. Rep.* 2021;23(6):43. DOI: 10.1007/s11926-021-01009-7.
17. Schlake T., Thess A., Thran M., Jordan I. mRNA as novel technology for passive immunotherapy. *Cell Mol. Life Sci.* 2019;76(2):301–328. DOI: 10.1007/s00018-018-2935-4.
18. Smirnov A.V. Potential use of exogenous RNAs for the analysis of the complex effects of biologically active substances. *Bull. Eksp. Biol. and Med.* 1985;100(7):81–83.
19. Wolff J.A., Malone R.W., Williams P., Chong W., Acsadi G., Jani A., Felgner P.L. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science.* 1990;247(4949 Pt 1):1465–1468. DOI: 10.1126/science.1690918.
20. Zhu X., Yin L., Theisen M., Zhuo J., Siddiqui S., Levy B., Presnyak V., Frassetto A., Milton J., Salerno T., Benenato K.E., Milano J., Lynn A., Sabnis S., Burke K., Besin G., Lukacs C.M., Guey L.T., Finn P.F., Martini P.G.V. Systemic mRNA therapy for the treatment of Fabry disease: Preclinical studies in wild-type mice, Fabry mouse model, and wild-type non-human primates. *Am. J. Hum. Genet.* 2019;104(4):625–637. DOI: 10.1016/j.ajhg.2019.02.003.
21. Wang W., Liu D., Zhang X., Chen D., Cheng Y., Shen F. Plant microRNAs in cross-kingdom regulation of gene expression. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(7):2007. DOI: 10.3390/ijms19072007.
22. Zhang L., Hou D., Chen X., Li D., Zhu L., Zhang Y., Li J., Bian Z., Liang X., Cai X., Yin Y., Wang C., Zhang T., Zhu D., Zhang D., Xu J., Chen Q., Ba Y., Liu J., Wang Q., Chen J., Wang J., Wang M., Zhang Q., Zhang J., Zen K., Zhang C.Y. Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: Evidence of cross-kingdom regulation by microRNA. *Cell Res.* 2012;22(1):107–126. DOI: 10.1038/cr.2011.158.
23. Zhou Z., Li X., Liu J., Dong L., Chen Q., Liu J., Kong H., Zhang Q., Qi X., Hou D., Zhang L., Zhang G., Liu Y., Zhang Y., Li J., Wang J., Chen X., Wang H., Zhang J., Chen H., Zen K., Zhang C.Y. Honeysuckle-encoded atypical microRNA2911 directly targets influenza A viruses. *Cell Res.* 2015;25(1):39–49. DOI: 10.1038/cr.2014.130.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Оковитый Сергей Владимирович*, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com

Шустов Евгений Борисович, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: evgeniy.shustov@pharminnotech.com

Sergey V. Okovity*, Dr. Sci. (Med.), Prof., St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: sergey.okovity@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: evgeniy.shustov@pharminnotech.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



АДАПТОГЕННЫЕ И НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА АСКОРБАТА ЛИТИЯ

К.С. Остренко^{1,*}, О.А. Громова², В.В. Расташанский³

¹Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии,
биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ
«Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»
249013, Российская Федерация, Калужская обл., Боровск, пос. Институт

²ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» РАН»
119333, Российская Федерация, Москва, ул. Вавилова, 44, корп. 2

³ООО «Нормофарм»
121205, Российская Федерация, Москва, терр. инновационного центра Сколково, ул. Нобеля, 5

Цель исследования — изучение нейропротективных свойств аскорбата лития в моделях стресса *in vivo* и *in vitro*. Проведены нейроцитологические и поведенческие исследования на моделях стресса в культуре нервных клеток и у экспериментальных животных. Показан выраженный нейропротективный эффект аскорбата лития при цитотоксическом действии глутамата *in vitro* и его адаптогенный эффект при индукции стресса *in vivo*. Результаты указывают на высокий нейропротективный потенциал аскорбата лития в условиях стресса, индуцируемого *in vivo* и *in vitro*.

Ключевые слова: стресс, эксайтотоксичность, глутамат, аскорбат лития

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Остренко К.С., Громова О.А., Расташанский В.В. Адаптогенные и нейропротективные свойства аскорбата лития. *Биомедицина*. 2022;18(3):122–127. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-122-127>

Поступила 28.03.2022

Принята после доработки 04.04.2022

Опубликована 10.09.2022

ADAPTOGENIC AND NEUROPROTECTIVE PROPERTIES OF LITHIUM ASCORBATE

Konstantin S. Ostrenko^{1,*}, Olga A. Gromova², Vyacheslav V. Rastashansky³

¹All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition —
branch of the Federal Scientific Center of Animal Husbandry —
The All-Russian Institute of Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst
249013, Russian Federation, Kaluga Region, Borovsk, Institut Village

²Federal Research Center “Computer Science and Control” of the Russian Academy of Sciences
119333, Russian Federation, Moscow, Vavilova Str., 44/2

³Normopharm
121205, Russian Federation, Moscow, terr. of the Innovation Center Skolkovo, Nobelya Str., 5

In this work, we study the neuroprotective properties of lithium ascorbate in *in vivo* and *in vitro* stress models. Neurocytological and behavioral studies were carried out on models of stress in both a culture of nerve cells and experimental animals. The studied drug showed a significant neuroprotective effect of lithium ascorbate in neuronal cultures exposed to glutamate toxicity and an adaptogenic effect in stress models

in rats. The results suggest that lithium ascorbate possess a high neuroprotective potential in stress models *in vivo* and *in vitro*.

Keywords: stress, excitotoxicity, glutamate, lithium ascorbate

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

For citation: Ostrenko K.S., Gromova O.A., Rastashansky V.V. Adaptogenic and Neuroprotective Properties of Lithium Ascorbate. *Journal Biomed.* 2022;18(3):122–127. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-122-127>

Submitted 28.03.2022

Revised 04.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Стресс — состояние повышенного напряжения организма, возникающее при отсутствии адекватной адаптивной реакции на стимулы окружающей среды (стрессоры). В норме их воздействие вызывает мобилизацию адаптационных возможностей организма. Когда вследствие тех или иных причин сопротивляемость организма снижается, наступает т. н. стадия истощения (дистресс), затяжной период которого может вести к развитию различных хронических заболеваний [5]. Хронический стресс снижает жизнеспособность нейронов и ведёт к нейродегенерации. Даже умеренный хронический стресс приводит к появлению таких признаков нейродегенерации, как нарушение синаптической передачи, накопление бета-амилоида и гиперфосфорилирование тау-белка. Эти эффекты реализуются на фоне избыточной активации глутаматных NMDA-рецепторов, что приводит к эксайтотоксической гибели нейронов [1].

Одним из факторов, способствующих развитию стресса, является недостаточность микронутриентов, в частности лития. Литий — эссенциальный микроэлемент, необходимый для нормального функционирования нервной системы. Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о его нейротрофических и нейропротективных эффектах [2]. Применение препаратов лития повышает синтез нейротрофических факторов, препятствует

гибели нейронов через модуляцию каскада апоптоза PI3K/Akt/GSK3. В очень малых дозах (мкг и мг) литий крайне важен как ион, специфически (незаменимо) обеспечивающий активность молекулярных каскадов, которые способствуют ускорению роста нейронов и повышению их устойчивости к окислительному стрессу, улучшению пространственной памяти, предотвращению негативного влияния на неё хронического стресса [3, 4, 6]. По нашим данным, аскорбат лития в 8,4 раза менее токсичен, чем неорганическая соль карбоната лития. Аскорбат лития характеризуется наилучшими параметрами острой токсичности: так, LD₅₀ аскорбата лития для крыс Wistar составляет 6334 мг/кг, что позволяет отнести субстанцию аскорбата лития к 5-му классу «практически нетоксичных» веществ с LD₅₀ ≥ 5000 мг/кг.

Цель исследования — изучение нейропротективных свойств аскорбата лития (АЛ) в моделях стресса *in vivo* и *in vitro*. Оценивались параметры в тестах по иммобилизации и глутаматного стресса.

Материалы и методы

Исследования in vivo

В тесте по иммобилизации было сформировано 5 групп по 36 животных в каждой, подобранных по принципу пар-аналогов: группа 1 — контроль (вода); группа 2 — АЛ в дозе 60 мг/кг; группа 3 — АЛ в дозе

30 мг/кг; группа 4 — АЛ в дозе 10 мг/кг; группа 5 — интакт (без модели стресса). В качестве основных маркеров оценки стрессового воздействия определяли следующие показатели: концентрацию адреналина и норадреналина в крови, уровень эозинофилов (по Дунгеру), подсчёт количества язв в желудке.

Исследования *in vitro*

Использованы 7–8-сут. культуры, полученные методом ферментно-механической диссоциации клеток мозжечка 7-дневных крыс. Культивирование проводили 7–8 сут. в инкубаторе, заполненном газовой смесью (95% воздуха и 5% CO₂), при температуре 35,5 °С и относительной влажности 98%. К этому сроку культивированные зернистые нейроны (КЗН) достигают своей морфологической и нейрохимической зрелости. АЛ добавляли в среду на 7-е сут. *in vitro*, за 3 ч до воздействия глутамата. Были выбраны следующие его концентрации: 0,1, 0,2, 0,5 и 1,0 мМ. Поскольку КЗН имеют рецепторы глутамата, а к 7-му дню *in vitro* происходит их созревание, их гиперстимуляция с помощью экзогенного глутамата вызывает гибель КЗН, что является удобной моделью нейродегенерации.

Результаты и их обсуждение

В тесте иммобилизации (подвешивания) количество язв желудка, которое прямо коррелировало со степенью выраженности стресса, под влиянием АЛ заметно снижалось. Более длительный приём препарата приводил к более выраженному снижению числа язв. Отличия между группой 1 и контролем в соответствии с *t*-критерием Стьюдента оказались статистически достоверными ($p < 0,05$).

Число эозинофилов в цельной крови и концентрации адреналина и норадреналина являются специфическими маркерами воздействия различных стресс-факторов. С возрастанием дистресса число эозинофилов падает (эозинопения — ха-

рактерный биомаркер стресса), а адреналина и норадреналина — возрастает (стресс стимулирует секрецию катехоламинов симпатическими ядрами и корой надпочечников). Применение АЛ приводило к сохранению пула эозинофилов.

Результаты классических физиологических маркеров коррелирует с показателями основных гормонов стресса адреналина и норадреналина.

Как показал анализ эмпирических функций распределения средних чисел с использованием теста Колмогорова – Смирнова, АЛ (без добавления глутамата) в диапазоне концентраций от 0,1 до 1,0 мМ нетоксичен для культивированных зернистых нейронов КЗН.

При цитотоксическом действии глутамата (100 мкМ) АЛ в указанном диапазоне концентраций оказывал выраженный нейропротективный эффект (рис. 1). Анализ функций распределения средних чисел выживших нейронов при всех концентрациях АЛ показал достоверное отличие от результатов, полученных при действии только глутамата. Результаты применения АЛ даже в минимальной концентрации (0,1 мМ) приводили к достоверным отличиям ($D=0,19$; $p=0,049$). При повышении концентрации выраженность отличий увеличивалась (значения максимального отклонения D возрастали, а значения p снижались), а при самой высокой концентрации (1,0 мМ) отличия между глутаматной токсичностью и контролем были на грани статистической значимости ($D=0,17$; $p=0,059$). Таким образом, АЛ во всем изученном диапазоне концентраций (0,1–1,0 мМ) повышал выживаемость нейронов при глутаматном стрессе. Анализ данных с использованием теста ANOVA показал, что выживаемость нейронов при цитотоксическом действии глутамата в присутствии АЛ в диапазоне концентраций от 0,1 до 1 мМ, начиная с концентрации 0,2 мМ, достоверно дозозависимо повышалась в среднем на 12% (рис. 2).

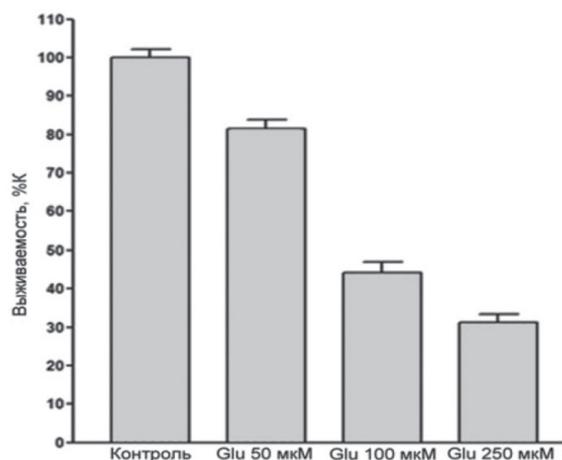


Рис. 1. Влияние глутамата (Glu) на выживаемость культур (число морфологически неизменённых нейронов на фиксированных препаратах, окрашенных трипановым синим).

Fig. 1. Effect of glutamate (Glu) on culture survival (number of morphologically unchanged neurons on fixed preparations stained with trypan blue).

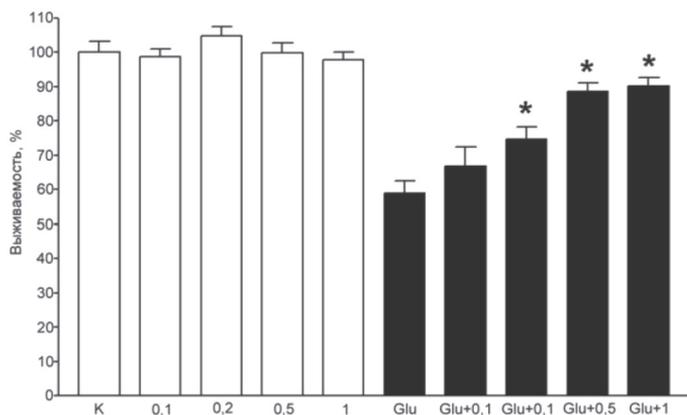


Рис. 2. Нейропротективный эффект АЛ при цитотоксическом воздействии глутамата.

Примечания: светлые столбцы — АЛ (0,1–1,0 мМ) в отсутствие глутамата, тёмные — в тех же концентрациях в присутствии 100 мкМ глутамата (Glu); К — контроль; * — $p < 0,01$ по сравнению с глутаматом без добавления препарата; для каждого столбика подсчитано по 30 полей зрения.

Fig. 2. Neuroprotective effect of lithium ascorbate under the cytotoxic effect of glutamate.

Notes: light columns — lithium ascorbate (0.1–1.0 mM) in the absence of glutamate, dark columns — at the same concentrations in the presence of 100 μ M glutamate (Glu); K — control; * — $p < 0.01$ compared with glutamate without the addition of the drug; 30 visual fields were counted for each column.

При подсчёте числа выживших КЗН АЛ препятствует их деструкции под воздействием глутамата. При подсчёте числа выживших КЗН АЛ препятствует их деструкции под воздействием глутамата. Хорошо заметно, что присутствие в питательной среде

Заключение

Полученные нами данные свидетельствуют о выраженных адаптогенных свойствах нетоксичной стандартизированной субстанции органической соли лития — аскорбата лития в условиях стресса, моделируемого *in vivo* и *in vitro*, и о тесной связи между стрессом и нейродеструктивными процессами на клеточном уровне. В экспериментах *in vivo* препарат способствовал сохранению пула эозинофилов и снижению уровня адреналина и норадреналина в крови, улучшал

показатели адаптации животных. При цитотоксическом действии глутамата *in vitro* аскорбат лития во всём исследованном диапазоне концентраций (0,1–1,0 мМ) оказывал защитный эффект. Таким образом, результаты наших исследований расширяют представления о нейропротективном потенциале малых доз препаратов лития и согласуются с ранее проведёнными исследованиями в экспериментах на культурах клеток стриатума, гиппокампа, неокортекса, мозжечка, а также при черепномозговой травме.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Chouhan A., Abhyankar A., Basu S. The feasibility of low-dose oral lithium therapy and its effect on thyroidal radioiodine uptake, retention, and hormonal parameters in various subcategories of hyperthyroid patients: A pilot study. *Nucl. Med. Commun.* 2016;37(1):74–78. DOI: 10.1097/mnm.0000000000000414.
2. Gromova O., Torshin I., Gogoleva I.V., Pronin A.V., Stelmashuk E.V., Isaev N.K., Genrikhs E.E., Demidov V.I., Volkov A.Y., Khaspekov G.L., Alexandrova O.P. Pharmacokinetic and pharmacodynamic synergism between neuropeptides and lithium in the neurotrophic and neuroprotective action of cerebrolysin. *Zh. Nevrol. Psikhiatr. Im. S.S. Korsakova.* 2015;115(3):65–72. DOI: 10.17116/jnevro20151153165-72.
3. Hozer F., Sarrazin S., Laidi C., Favre P., Pauling M., Cannon D., McDonald C., Emsell L., Mangin J.-F., Duchesnay E., Bellani M., Brambilla P., Wessa M., Linke J., Polosan M., Versace A., Phillips M.L., Delavest M., Bellivier F., Hamdani N., d'Albis M.A., Leboyer M., Houenou J. Lithium pre-
- vents grey matter atrophy in patients with bipolar disorder: An international multicenter study. *Psychol. Med.* 2021;51(7):1201–1210. DOI: 10.1017/s0033291719004112.
4. Li M., Xia M., Chen W., Wang J., Yin Y., Guo C., Li C., Tang X., Zhao H., Tan Q., Chen Y., Jia Z., Liu X., Feng H. Lithium treatment mitigates white matter injury after intracerebral hemorrhage through brain-derived neurotrophic factor signaling in mice. *Transl. Res.* 2019;217:61–74. DOI: 10.1016/j.trsl.2019.12.006.
5. Ochoa E.L.M. Lithium as a neuroprotective agent for bipolar disorder: An overview. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2021;42(1):85–97. DOI: 10.1007/s10571-021-01129-9.
6. Torshin I.Y., Gromova O.A., Kovrazhkina E.A., Razinskaya O.D., Prokopovich O.A., Stakhovskaya L.V. Intelligent analysis of data on the relationship between blood trace elements and the condition of patients with amyotrophic lateral sclerosis indicated decreased levels of lithium and selenium. *Cons. Med.* 2017;19(9):88–96. DOI: 10.26442/2075-1753_19.9.88-96.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

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

Громова Ольга Алексеевна, д.м.н., проф.,
ФГУ «Федеральный исследовательский центр
«Информатика и управление» РАН»;
e-mail: unesco.gromova@gmail.com

Olga A. Gromova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Federal
Research Center “Computer Science and Control”
of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: unesco.gromova@gmail.com

Расташанский Вячеслав Валерьевич, ООО
«Нормофарм»;
e-mail: normotim@yandex.ru

Vyacheslav V. Rastashansky, Normopharm;
e-mail: normotim@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



ВЛИЯНИЕ ОРНИТИНА АСПАРТАТА И ЭМПАГЛИФЛОЗИНА НА ПРОЯВЛЕНИЯ МНЕСТИЧЕСКОГО ДЕФИЦИТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СТЕАТОГЕПАТИТЕ

В.А. Приходько

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

В настоящем исследовании проведена оценка влияния L-орнитина L-аспартата и эмпаглифлозина на состояние гиппокамп-зависимых видов памяти при неалкогольном стеатогепатите (НАСГ) у мышей линии C57Bl/6. Установлено, что НАСГ сопровождается транзиторным снижением краткосрочной распознающей памяти на ранних этапах, а также прогрессирующим ослаблением рабочей пространственной памяти. L-орнитина L-аспартат предупреждает развитие дефицита распознающей, но не пространственной памяти, в то время как эмпаглифлозин не оказывает заметного влияния на состояние мнестических функций животных.

Ключевые слова: орнитина аспартат, эмпаглифлозин, расстройства памяти, неалкогольный стеатогепатит, неалкогольная жировая болезнь печени

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Приходько В.А. Влияние орнитина аспартата и эмпаглифлозина на проявления мнестического дефицита при экспериментальном стеатогепатите. *Биомедицина*. 2022;18(3):128–132.
<https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-128-132>

Поступила 05.04.2022

Принята после доработки 11.04.2022

Опубликована 10.09.2022

EFFECTS OF ORNITHINE ASPARTATE AND EMPAGLIFLOZIN ON MEMORY DEFICIT SYMPTOMS IN EXPERIMENTAL STEATOHEPATITIS

Veronika A. Prikhodko

*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 this study, L-ornithine L-aspartate and empagliflozin were evaluated in terms of their potential effects on the hippocampus-dependent memory status in non-alcoholic steatohepatitis (NASH) in C57Bl/6 mice. NASH was found to be associated with an early transient decrease in the short-term recognition memory as well as a progressive reduction in the short-term spatial memory. L-ornithine L aspartate effectively prevented the impairment of recognition, rather than spatial, memory. At the same time, empagliflozin failed to improve the memory status of the animals.

Keywords: ornithine aspartate, empagliflozin, memory deficit, non-alcoholic steatohepatitis, non-alcoholic fatty liver disease

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

For citation: Prikhodko V.A. Effects of Ornithine Aspartate and Empagliflozin on Memory Deficit Symptoms in Experimental Steatohepatitis. *Journal Biomed.* 2022;18(2):128–132. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-128-132>

Submitted 05.04.2022

Revised 11.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Нарушения зрительно-пространственной, эпизодической вербальной и других видов гиппокамп-зависимой памяти являются одним из наиболее частых проявлений когнитивного дефицита, ассоциированного с неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП). Несмотря на наличие широкого спектра лекарственных средств, применение которых может быть показано у больных НАЖБП, в настоящее время их эффективность в отношении центральных неврологических осложнений этого заболевания, включая когнитивно-мнестические нарушения, остаётся недостаточно изученной [6].

Целью исследования стала оценка влияния двух лекарственных средств с гепатопротекторной активностью — L-орнитина L-аспартата (LOLA) и эмпаглифлозина — на проявления мнестического дефицита при экспериментальном неалкогольном стеатогепатите (НАСГ) у мышей линии C57Bl/6.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 100 мышак-самцах линии C57Bl/6, рандомизированных на 4 группы: 1) «Интакт» (n=10); 2) «Контроль» (n=30): НАСГ; 3) «LOLA» (n=30): НАСГ + LOLA (1,5 г/кг/сут.; Гепат-Мерц®, «Merz Pharma», Германия); 4) «EMPA» (n=30): экспериментальный НАСГ + EMPA (10 мг/кг/сут.; Джардинс®, «Boehringer Ingelheim», Германия). LOLA и EMPA вводили 1 раз в сутки внутривенно в виде свежеприготовленных вод-

ных р-ров; группы «Интакт» и «Контроль» получали физ. р-р в эквивалентных количествах. НАСГ моделировали в течение 3 мес. с использованием комбинированной алиментарно-токсической модели [9].

Состояние мнестических функций животных оценивали через 1, 2 и 3 мес. от начала эксперимента. Для оценки краткосрочной пространственной памяти определяли частоту (%) актов спонтанного чередования в тесте «Спонтанное чередование в Т-лабиринте» (ТЛ-СЧ) (НПК «Открытая Наука», Россия) [3]. Состояние краткосрочной распознающей памяти оценивали с помощью теста «Распознавание нового объекта» (РНО) (НПК «Открытая Наука», Россия), определяя долю времени изучения нового объекта (НО) (%) и индекс дискриминации [7].

Результаты и их обсуждение

В тесте ТЛ-СЧ у интактных животных в течение всего экспериментального периода частота спонтанного чередования сохранялась на уровне 70–73%, соответствующем референтному [3]. В контрольной группе наблюдалось линейно прогрессирующее уменьшение частоты чередования, и к окончанию эксперимента это отличие стало статистически значимым (73% против 33%; $p < 0,01$). LOLA и EMPA не оказывали существенного влияния на данный показатель на протяжении всего экспериментального периода (рис. 1).

В тесте РНО интактные животные во всех контрольных точках демонстрировали положительную дискриминацию НО, что согласуется с литературными данными [7].

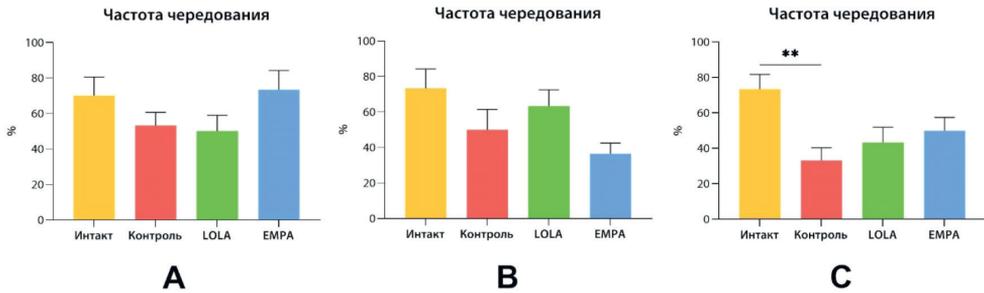


Рис. 1. Результаты оценки состояния краткосрочной пространственной памяти животных в тесте «Спонтанное чередование в Т-лабиринте» через 1 (А), 2 (В) и 3 (С) месяца от начала эксперимента. LOLA — L-орнитина L-аспарат, EMPA — эмпаглифлозин; ** — $p < 0,01$.

Fig. 1. Short-term spatial memory status as assessed by spontaneous alternation in the T-maze at 1 (A), 2 (B), and 3 (C) months from the start of the experiment. LOLA — L-ornithine L-aspartate, EMPA — empagliflozin; ** — $p < 0.01$.

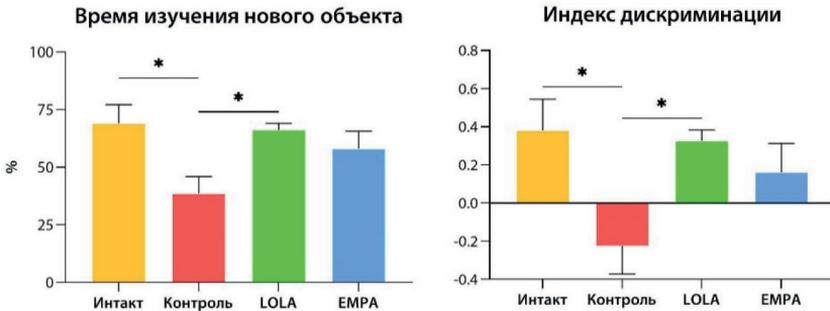


Рис. 2. Результаты оценки состояния краткосрочной распознающей памяти животных в тесте «Распознавание нового объекта» через 2 мес. от начала эксперимента. LOLA — L-орнитина L-аспарат, EMPA — эмпаглифлозин; * — $p < 0,05$.

Fig. 2. Short-term recognition memory status as assessed by novel object recognition at 2 months from the start of the experiment. LOLA — L-ornithine L-aspartate, EMPA — empagliflozin; * — $p < 0.05$.

Через 2 мес. от начала эксперимента у мышей с НАСГ наблюдалось значительное уменьшение времени изучения НО и индекса дискриминации ($p < 0,05$ в обоих случаях), однако к окончанию 3-го мес. эти различия нивелировались. В группе LOLA через 2 мес. эксперимента значения обоих показателей значимо превышали таковые в контрольной группе ($p < 0,05$), но практически не отличались от них к окончанию периода исследования. EMPA не оказывал заметного влияния на оцениваемые показатели ни в одной из контрольных точек (рис. 2).

Избирательное нарушение формирования и ретенции аллоцентрических пространственных представлений при сохранении референтной зрительной памяти характерно для животных с повреждённым гиппокампом. Установлено, что ослабление краткосрочной пространственной памяти при НАСГ и гипераммониемии у грызунов обусловлено снижением метаболической активности нейронов гиппокампа, таламуса, энторинальной коры, миндалевидного и мамиллярных тел, а также снижением уровней норадреналина в стриатуме и дофамина в префронтальной коре и мозжеч-

ке [5]. Развитие дефицита зрительно-пространственной памяти у пациентов с различными стадиями НАЖБП было подтверждено в двух срезовых популяционных исследованиях и одном исследовании типа «случай-контроль» [4].

Транзиторный характер нарушений краткосрочной распознающей памяти, вероятно, обусловлен адаптацией обменных процессов к внешнему воздействию. Установлено, что распознающая память, как и пространственная, относится к гиппокамп-зависимым функциям, однако является значительно менее «ресурсоёмкой». Так, у крыс ослабление пространственной памяти развивалось при билатеральном повреждении от 30% объёма гиппокампа, в то время как способность к распознаванию объектов сохранялась при поражении до 75% его объёма [1].

Предположительно, LOLA может способствовать компенсации дефицита распознающей памяти путём реактивации орнитинового цикла в гепатоцитах и уменьшения центральной нейротоксичности

аммиака, а также участия в реакциях образования глутатиона, L-аргинина, незаменимых аминокислот и полиаминов [2, 8]. С учётом отсутствия значимого влияния LOLA на состояние пространственной памяти можно предположить, что восполнение системного резерва орнитина способно лишь частично компенсировать поражение гиппокампа, возникающее на фоне НАСГ.

Выводы

Экспериментальный НАСГ у мышей линии C57Bl/6 сопровождается транзиторным снижением краткосрочной распознающей памяти на ранних этапах, а также прогрессирующим ослаблением рабочей пространственной памяти, предположительно, связанным с поражением гиппокампа и ассоциированных структур. LOLA предупреждает развитие дефицита распознающей памяти, но не влияет на состояние пространственной памяти животных. ЕМРА не оказывает заметного влияния на проявления мнестического дефицита при экспериментальном НАСГ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Broadbent N.J., Squire L.R., Clark R.E. Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004;101(40):14515–14520. DOI: 10.1073/pnas.0406344101.
2. Butterworth R.F. L-Ornithine L-Aspartate (LOLA) for the treatment of hepatic encephalopathy in cirrhosis: Novel insights and translation to the clinic. *Drugs*. 2019;79(Suppl 1):1–3. DOI: 10.1007/s40265-018-1021-4.
3. Deacon R.M., Rawlins J.N. T-maze alternation in the rodent. *Nat. Protoc.* 2006;1(1):7–12. DOI: 10.1038/nprot.2006.2.
4. George E.S., Sood S., Daly R.M., Tan S.Y. Is there an association between non-alcoholic fatty liver disease and cognitive function? A systematic review. *BMC Geriatr.* 2022;22(1):47. DOI: 10.1186/s12877-021-02721-w.
5. Higarza S.G., Arboleya S., Gueimonde M., Gómez-Lázaro E., Arias J.L., Arias N. Neurobehavioral dysfunction in non-alcoholic steatohepatitis is associated with hyperammonemia, gut dysbiosis, and metabolic and functional brain regional deficits. *PLoS One.* 2019;14(9):e0223019. DOI: 10.1371/journal.pone.0223019.
6. Kjærgaard K., Mikkelsen A.C.D., Wernberg C.W., Grønkjær L.L., Eriksen P.L., Damholdt M.F., Mookerjee R.P., Vilstrup H., Lauridsen M.M., Thomsen K.L. Cognitive dysfunction in non-alcoholic fatty liver disease—current knowledge, mechanisms and perspectives. *J. Clin. Med.* 2021;10(4):673. DOI: 10.3390/jcm10040673.
7. Leger M., Quiedeville A., Bouet V., Haelewyn B., Boulouard M., Schumann-Bard P., Freret T. Object recognition test in mice. *Nat. Protoc.* 2013;8(12):2531–2537. DOI: 10.1038/nprot.2013.155.
8. Prikhodko V.A., Sysyov Yu.I., Poveryaeva M.A., Bunyat A.V., Ivkin D.Y., Sukhanov D.S., Shustov E.B., Okovityi S.V., Karev V.E. Effects of empagliflozin and L-ornithine L-aspartate on behavior, cognitive functions, and physical performance in mice with experimentally induced steatohepatitis. *Bull. Russ. State Med. Univ.* 2020;(3):49–57. DOI: 10.24075/brsmu.2020.034.
9. Tsuchida T., Lee Y.A., Fujiwara N., Ybanez M., Allen B., Martins S., Fiel M.I., Goossens N., Chou H.I., Hoshida Y., Friedman S.L. A simple diet and chemical-induced murine NASH model with rapid progression of steatohepatitis, fibrosis and liver. *J. Hepatol.* 2018;69(2):385–395. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.03.011.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Приходько Вероника Александровна, ФГБОУ
ВО «Санкт-Петербургский государственный
химико-фармацевтический университет» Мин-
здрава России;
e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com

Veronika A. Prihodko, St. Petersburg State
Chemical and Pharmaceutical University of the Mi-
nistry of Health Care of Russia;
e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com

80
лет
Поздравляет с юбилеем!



*члена редакционного совета научного журнала
«Биомедицина»*

**Павла Александровича
ГАЛЕНКО-ЯРОШЕВСКОГО**

Павел Александрович Галенко-Ярошевский – выдающийся ученый-фармаколог, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки Кубани и Республики Адыгея, заведующий кафедрой фармакологии Кубанского государственного медицинского университета, член правления Российского научного общества фармакологов, член редакционной коллегии журнала «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины».

В область научных интересов П.А. Галенко-Ярошевского входит изучение нейро-, кардио- и дерматотропных лекарственных средств.

Автор и соавтор более 500 научных работ, 40 учебников, монографий и руководств, 90 российских и зарубежных авторских свидетельств и патентов на изобретения, 3 дипломов на научные открытия. Под его научным руководством защищено 96 кандидатских и докторских диссертаций.

Сердечно поздравляем глубокоуважаемого Павла Александровича и желаем ему крепкого здоровья, счастья, благополучия, творческих успехов и новых свершений!

*Редакция журнала «Биомедицина»,
главный редактор акад. Н.Н. Каркищенко*

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