

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

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

БИОМЕДИЦИНА

SCIENTIFIC JOURNAL

JOURNAL BIOMED

Том (Vol.) 19

2023

2



Уважаемые коллеги, авторы и читатели журнала «Биомедицина»!



24–25 мая 2023 года состоялась наша XIX ежегодная научно-практическая конференция «Биомедицина и биомоделирование», на которой в 6 секциях было представлено 46 докладов. Конференция прошла в очном и заочном форматах. Мы благодарны коллегам из Ростова-на-Дону и Санкт-Петербурга за проведение секций в своих регионах, а также всем участникам Конференции.

Наиболее яркие и актуальные работы будут опубликованы в ближайших выпусках журнала «Биомедицина».



ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»

БИОМЕДИЦИНА

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2005 г.
4 выпуска в год

2023, Том 19, № 2

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

JOURNAL BIOMED

SCIENTIFIC JOURNAL

Published since 2005.
Quarterly.

2023, Vol. 19, No. 2

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)

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

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)

Еримбетов Кенес Тагаевич, д.б.н. (Боровск, Калужская обл., Россия)

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

Коваленко Леонид Владимирович, д.х.н., проф. (Москва, Россия)

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

Кузнецов Александр Евгеньевич, д.т.н., проф. (Москва, Россия)

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

Мартиросян Владимир Викторович, д.т.н., проф. РАН (Москва, Россия)

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

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

Николенко Владимир Николаевич, д.м.н., проф. (Москва, Россия)

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

Остренко Константин Сергеевич, д.б.н. (Боровск, Калужская обл., Россия)

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

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

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

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

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

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

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

Федулова Лилия Вячеславовна, д.т.н., проф. РАН (Москва, Россия)

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

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

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

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

Щастный Анатолий Тадеушевич, д.м.н., проф. (Витебск, Республика Беларусь)

БИОМЕДИЦИНА

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:	10.06.2023

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)

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

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)

Kenes T. Erimbetov, Dr. Sci. (Biol.) (Borovsk, Kaluga Region, Russia)

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

Leonid V. Kovalenko, Dr. Sci. (Chem.), Prof. (Moscow, Russia)

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

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

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

Vladimir V. Martirosyan, Dr. Sci. (Tech.), Prof. of the RAS (Moscow, Russia)

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

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

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

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

Konstantin S. Ostrenko, Dr. Sci. (Biol.) (Borovsk, Kaluga Region, Russia)

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

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

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

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

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

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

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

Liliya V. Fedulova, Dr. Sci. (Tech.), Prof. 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)

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

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

Anatoliy T. Shchastnyj, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Vitebsk, Republic of Belarus)

JOURNAL BIOMED

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:	10.06.2023

■ МЕТОДЫ И ТЕХНОЛОГИИ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Ю.В. Фокин, С.Ю. Харитонов Н.Н. КаркищенкоФармако-ЭЭГ анализ эффектов регуляторных нейропептидов
с ноотропными свойствами у кошек 8**М.Ю. Раваева, И.В. Черетаев, Е.Н. Чуян, П.А. Галенко-Ярошевский**Показатели белкового, липидного и углеводно-энергетического обмена у крыс
в условиях воздействия острого и хронического гипокинетического стресса
и их комбинаций. 16

■ РЕЛЕВАНТНОЕ И АЛЬТЕРНАТИВНОЕ БИОМОДЕЛИРОВАНИЕ

**П.К. Анохин, Т.В. Проскуракова, В.А. Шохонова, В.С. Кохан, И.Е. Тарабарко,
И.Ю. Шамакина**Половые различия в аддиктивном поведении взрослых крыс:
эффекты пренатальной алкоголизации 27

■ ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОМЕДИЦИНЕ

**Е.В. Ганцгорн, А.В. Сафроненко, Е.В. Губин, В.А. Власенко, Е.В. Рашкова,
И.М. Маллеев, А.В. Иванов, С.С. Герасюта, Г.А. Булгурян, Я.О. Осипенко,
О.В. Денисенко, Д.А. Саакян, М.Х. Иванова**Актуальные вопросы применения и эффективности прямых оральных
антикоагулянтов с учетом их фармакогенетических особенностей 37**К.С. Остренко, А.Н. Овчарова, О.П. Егорова**Изучение эффективности применения субстанции Эпофен
при нормобарической гипоксии 45**Н.В. Бубнова**Реакция CD68-положительных клеток тимуса у крыс при введении селена
и канцерогена 54

■ БИОМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В СПОРТЕ

В.В. Сверчков, Е.В. БыковКардиореспираторная выносливость обратно пропорциональна тяжести
метаболического синдрома у мужчин 61

■ БИОМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

И.А. Помыткин, В.В. Писарев, М.Е. Меркулов, С.М. Носков, Н.Н. КаркищенкоРезультаты I фазы открытого клинического исследования на здоровых добровольцах
препарата Дирекорд 69

■ METHODS AND TECHNOLOGIES OF BIOMEDICAL RESEARCH

Yuriy V. Fokin, Sergey Yu. Kharitonov, Nikolay N. Karkischenko

Pharmaco-EEG Analysis of Regulatory Neuropeptides with Nootropic Properties in Cats 8

Marina Y. Ravaeva, Igor V. Cheretaev, Elena N. Chuyan, Pavel A. Galenko-Yaroshevskii

Protein, Lipid and Carbohydrate-Energy Metabolism Indices in Rats under Acute and Chronic Hypokinetic Stress and their Combinations 16

■ RELEVANT AND ALTERNATIVE BIOMODELING

Petr K. Anokhin, Tatyana V. Proskuryakova, Vera A. Shokhonova,

Victor S. Kokhan, Irina E. Tarabarko, Inna Yu. Shamakina

Sex Differences in Addictive Behavior of Adult Rats: Effects of Prenatal Alcohol Exposure . . . 27

■ PRECLINICAL RESEARCH IN BIOMEDICINE

Elena V. Gantsgorn, Andrey V. Safronenko, Evgeny V. Gubin, Viktoria A. Vlasenko,

Ekaterina V. Rashkova, Ibragim M. Malleev, Artem V. Ivanov, Sergey S. Gerasyuta,

Grigory A. Bulguryan, Yana O. Osipenko, Olga V. Denisenko, Darya A. Saakyan,

Marina H. Ivanova

Current Issues of the Use And Efficacy of Direct Oral Anticoagulants According their Pharmacogenetic Features 37

Konstantin S. Ostrenko, Anastasia N. Ovcharova, Olga P. Yegorova

Study into the Efficacy of the Epophen Substance in Normobaric Hypoxia 45

Natalia V. Bubnova

Response of CD68-Positive Thymic Cells in Rats to Selenium and Carcinogen Administration 54

■ BIOMEDICAL TECHNOLOGIES IN SPORTS

Vadim V. Sverchkov, Evgeny V. Bykov

Cardiorespiratory Endurance is Associated with Metabolic Syndrome Severity in Men 61

■ BIOMEDICAL TECHNOLOGIES IN CLINICAL RESEARCH

Igor A. Pomytkin, Vladimir V. Pisarev, Mikhail E. Merkulov, Sergey M. Noskov,

Nikolay N. Karkischenko

Results of a Phase I Open-Label Clinical Trial of Direkord in Healthy Volunteers 69

ФАРМАКО-ЭЭГ АНАЛИЗ ЭФФЕКТОВ РЕГУЛЯТОРНЫХ НЕЙРОПЕПТИДОВ С НООТРОПНЫМИ СВОЙСТВАМИ У КОШЕК

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

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

Установлены информативные параметры нормированных электрограмм головного мозга кошек при действии регуляторных нейропептидов с ноотропными свойствами на примере препарата Семакс, подтвержденные сравнительным фармако-ЭЭГ анализом полученных результатов с различными фармакологическими средствами направленного действия. Выраженные стабильные активирующие и ноотропные эффекты данной фармакологической группы в электрограммах головного мозга отличаются однонаправленностью действия, совпадающего с данными фармакодинамики и фармакокинетики.

Ключевые слова: электрограммы головного мозга, нормализация (нормирование), нейропептиды, ноотропы, Семакс, фармако-ЭЭГ анализ, кошки

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Фокин Ю.В., Харитонов С.Ю., Каркищенко Н.Н. Фармако-ЭЭГ анализ эффектов регуляторных нейропептидов с ноотропными свойствами у кошек. *Биомедицина*. 2023;19(2):8–15. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-8-15>

Поступила 16.02.2023

Принята после доработки 28.02.2023

Опубликована 10.06.2023

PHARMACO-EEG ANALYSIS OF REGULATORY NEUROPEPTIDES WITH NOOTROPIC PROPERTIES IN CATS

Yuriy V. Fokin*, Sergey Yu. Kharitonov, Nikolay 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

Informative parameters of normalized electrograms of the brain of cats under the action of regulatory neuropeptides with nootropic properties were established using the example of the Semax drug. The results obtained were confirmed by a comparative pharmac-EEG analysis with various pharmacological agents of directed action. The pronounced stable activating and nootropic effects of this pharmacological group in brain electrograms are distinguished by a unidirectional action that coincides with the data of pharmacodynamics and pharmacokinetics.

Keywords: brain electrograms, normalization, neuropeptides, nootropics, Semax, pharmac-EEG analysis, cats

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

For citation: Fokin Yu.V., Kharitonov S.Yu., Karkischenko N.N. Pharmac-EEG Analysis of Regulatory Neuropeptides with Nootropic Properties in Cats. *Journal Biomed*. 2023;19(2):8–15. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-8-15>

Submitted 16.02.2023
Revised 28.02.2023
Published 10.06.2023

Введение

Современные реалии диктуют необходимость постоянно анализировать огромное количество информации, быстро и эффективно усваивать новый материал, добиваясь максимальной концентрации и высокой продуктивности. Напряженный умственный процесс, стрессы и дефицит времени — все это является сильной психоэмоциональной нагрузкой, которая истощает ресурсы организма, что проявляется в виде раздражительности, ухудшения памяти и трудности воспринимать что-то новое.

Идеальным «допингом» для мозга, повышающим продуктивность при меньших затратах жизненных ресурсов, считается сбалансированное чередование работы и отдыха. Но если по каким-то причинам этот вариант недоступен или неэффективен, повысить продуктивность помогут ноотропные препараты [12].

Основной фармакологический эффект антиоксидантов с ноотропными свойствами заключается в ингибировании процессов свободно-радикального окисления, выведение из организма свободных радикалов, а также улучшение пластичности нейронов. Арсенал лекарств данной группы регулярно пополняется. К их достоинствам следует отнести то, что они, во-первых, воздействуют на ключевые моменты патогенеза развития различных заболеваний, во-вторых, широкий спектр действия способствует применению в различных областях медицины [2–4, 11].

Для верификации ноотропных свойств регуляторных нейропептидов проведен фармако-ЭЭГ анализ посредством применения синтетического аналога адренокортикотропного гормона — препарата Семакс, имеющего выраженное ноотропное, адаптогенное, антиоксидантное, ангиопро-

теktivное, нейротрофическое действие. Важным фармакодинамическим свойством препарата при интраназальном применении является низкая токсичность и безопасность приема, он хорошо переносится, при длительном применении возможно слабое раздражение слизистой оболочки носа [13]. Противопоказан при повышенной тревожности, при острых психозах, судорогах в анамнезе, а также детям до 5 лет [5–7, 10, 11, 15–17].

Головной мозг является, по сути, «вещью в себе», поскольку вторая по сложности проблема после извлечения информации — ее анализ и интерпретация. Задачей огромной сложности в математике является геометрическое или физическое истолкование тех или иных математических функций. В биомедицинских же исследованиях возникают инвертные проблемы, когда различные графические, в частности, колебательные процессы нуждаются если не в создании нового математического аппарата, то в поиске и адаптации математических сущностей для описания известных или новых явлений. В наиболее простых случаях требуются новые алгоритмы для программного анализа получаемых результатов и представления их в числовом значении, поскольку природа предпочитает выдавать информативные процессы в аналоговой форме. А уж исследователю приходится осуществлять оцифровку и анализ биосигналов с минимальной утратой их информативных параметров.

Попыткам радикально решить проблему извлечения полезной информации во всем диапазоне или отдельных фрагментах электрограмм головного мозга, включая ЭЭГ, вызванные потенциалы, сверхмедленную активность и т. д., не счесть чи-

сла. Изобретены аналоговые и цифровые фильтры, созданы сложные алгоритмы и программы для персональных и суперкомпьютеров. Математический аппарат, использованный для анализа ЭЭГ, простирается от общеупотребительного быстрого преобразования Фурье (БПФ) до диаграмм Найквиста, функций Лагранжа, матаппарата колебаний нелинейной и квазилинейной систем, вплоть до экзотических инвариантных преобразований Лоренца, в виде релятивистских формул координат, а также нерелятивистских уравнений Шредингера. Однако наиболее оправданным оказался путь подхода к анализу получаемых результатов в строгих рамках конкретных задач, соответствующих определенным целям, и выбор адекватного и соответствующего этим задачам и целям математического аппарата.

Цель работы — нейровизуализация параметров электрограмм и оценка интрацентральных отношений головного мозга кошек при действии регуляторных нейропептидов посредством алгоритма программного анализа графических функций нормированных электрограмм.

Материалы и методы

Дизайн исследования

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

Кормление, содержание, карантин и обращение с животными подробно описаны в наших предыдущих работах по данной тематике [8, 9, 14].

Вживление электродов в головной мозг животных производилось стереотаксическим путем в виде разработанных электродных конструкций.

Регистрация и анализ параметров электрограмм с последующим нормированием осуществлялись с помощью разработанных

в НЦБМТ ФМБА России инновационных технических средств и программного обеспечения (микромодуль) [8, 9].

Нейровизуализация параметров электрограмм головного мозга (ЭГМ)

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

- 1) фоновых измерений — синие линии;
- 2) воздействия (экспериментальных данных) — красные линии;
- 3) нормированных по десятичному логарифму электрограмм мозга (НЭМ) — желтые линии.

На диаграмме отмечены:

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

На диаграммах указаны все частоты ЭГ анализируемого диапазона: δ (1–4 Гц), θ (4–8 Гц), α (8–12 Гц), σ (12–16 Гц), β (16–30 Гц) и γ (30–64 Гц).

Сравнительный программный анализ НЭМ

Мозг функционирует как единое целое, и даже высокочастотные сигналы имеют некоторую мощность, которая при стандартной обработке ЭГ близка к нулю и почти неразличима глазом. В силу большого объема и значительной субъективности визуального сравнения получаемых графиков НЭМ нами был разработан алгоритм для программного анализа результатов и их представления в числовом значении.

В основе алгоритма также лежит функция арктангенса, имеющая ряд особенностей и преимуществ:

- 1) функция арктангенса определена на всей числовой прямой и непрерывна;
- 2) область значений функции строго ограничена интервалом от $-\pi/2$ до $+\pi/2$;
- 3) даже небольшие изменения становятся весьма заметными.

Формула сравнительного анализа имеет следующий вид:

$$N_i = \frac{\tan^{-1}\left(\frac{S1_i}{S2_i}\right)}{0,5*\pi} * 2 - 1,$$

где N — сравнительный массив данных; i — индекс частоты; S1 — массив исходных (фоновых) данных; S2 — массив сравниваемых (экспериментальных) данных.

Поскольку значения спектральных плотностей мощностей частот — S1 и S2 — всегда больше нуля, то область значений данной функции укладывается в диапа-

зон от -1 до 1 , где значение « -1 » означает, что один массив данных несоизмеримо меньше, чем второй. Значение « 1 » указывает на противоположный результат, значение « 0 » — на равенство двух сравниваемых массивов (рис. 1).

Данный алгоритм позволяет также оценивать схожесть результатов НЭМ с помощью отношения площадей под кривыми, применяя отношение фактической площади к максимально возможной.

Отдельно анализируется процент схожести между двумя препаратами на пике их действия по каждому сопоставимому отделу мозга, а затем вычисляется среднее значение.

Фармако-ЭЭГ анализ регуляторных нейропептидов выполнен с однократным интраназальным применением препарата Семакс в эквивалентных человеку терапевтических дозах. Детекция параметров ЭГ мозга осуществлялась согласно фармакокинетическим и фармакодинамическим данным ($C_{\max}$ = 5–40 мин, $T_{1/2}$ = 2–4 ч), на графиках

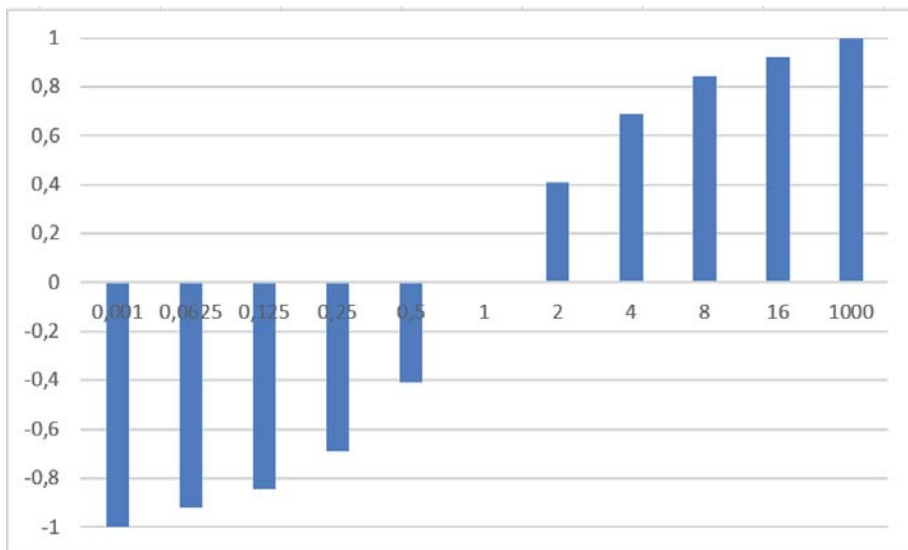


Рис. 1. Схематичный график представления результатов программного анализа. По оси абсцисс — коэффициенты мощности частот, по оси ординат — значения функции арктангенса.

Fig. 1. Schematic diagram of the presentation of the results of program analysis. The abscissa shows the frequency power factors; the ordinate shows the values of the arc tangent function.

представлены наиболее характерные результаты по обозначенным реперным точкам.

Результаты и их обсуждение

Через анализ нормированных функций электрограмм головного мозга осуществлена нейровизуализация эффектов регуляторных пептидов с ноотропными свойствами. Наиболее значимые эффекты в различных областях головного мозга, отражающие интрацентральные механизмы, представлены на рис. 2–4.

Сразу после введения тестируемого препарата в НЭМ отражается его активирующее действие по всему анализируемому диапазону, наиболее выражено проявляющееся на частотах около 3, 5 и 31–36 Гц.

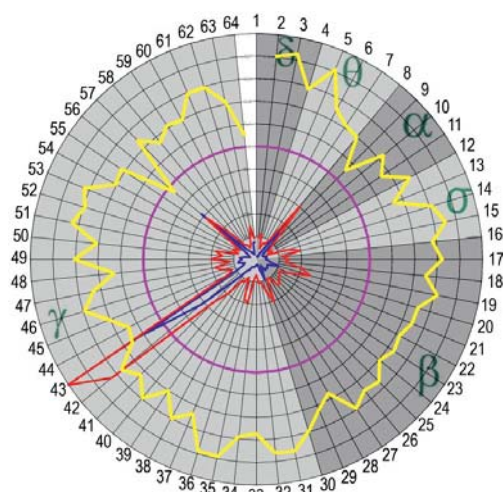


Рис. 2. Параметры ЭГМ и НЭМ через 5 мин после введения Семакса. Отдел мозга: Pr — прореальная извилина (gyrus proreus), лобный полюс. Синяя кривая — фоновые измерения, красная кривая — воздействие, желтая кривая — НЭМ. Розовый контур — базисная линия нормирования. Цифровое кодирование по периметру — частоты, Гц. Круговые сектора — спектральные характеристики ЭГМ.

Fig. 2. BE and NBE parameters 5 min after the administration of Semax. Brain region: Pr — preoreal gyrus (gyrus proreus), frontal pole. The blue curve is background measurements, the red curve is impact, the yellow curve is NBE. The pink contour is the basic line of valuation. Digital coding on the perimeter is the frequency, Hz. Circular sectors are the spectral characteristics of BE.

Спустя 1 ч активирующие эффекты значительно усиливаются, наиболее значительно — в частотных диапазонах 2–6, 10–20, 44–46 и 59–64 Гц. Преобладающие изменения в высокочастотном γ -диапазоне могут являться важнейшими показателями эффектов нейротропных средств.

Через 6 ч после введения Семакса наблюдается близкий к фоновому уровень активности, наиболее заметные экстремумы обнаруживаются на частотах около 54 и 42 Гц, что отражает фармакодинамические и фармакокинетические свойства. Элементы угнетения на данном временном интервале, детектируемые почти по всему анализируемому диапазону, отражают, предположи-

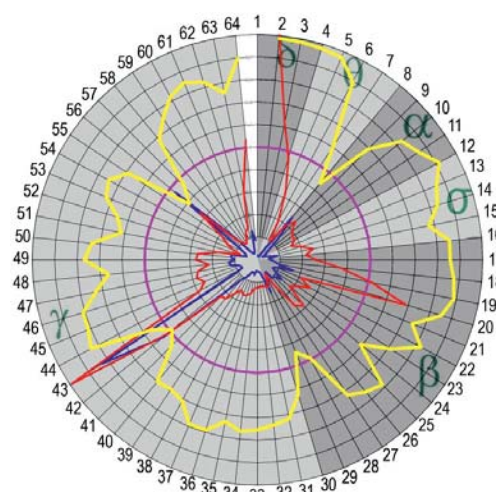


Рис. 3. Параметры ЭГМ и НЭМ через 1 ч после введения Семакса. Отдел мозга: HIPp — дорзальный гиппокамп (hippocampus posterior). Все обозначения — как на рис. 2.

Fig. 3. BE and NBE parameters 1 hour after the administration of Semax. Brain region: HIPp — dorsal hippocampus (hippocampus posterior). For all designations, refer to Fig. 2.

тельно, минимальный седативный компонент препарата.

С целью верификации полученных результатов проведен сравнительный анализ параметров НЭМ Семакса с ранее протестированными фармакологическими средствами (табл.).

Сопоставление информативных параметров психоактивности Семакса с таковыми ранее исследованных фармакологических средств подтвердило полученные результаты анализа НЭМ, показав его существенные сходства с препаратами, имеющими психостимулирующие свойства, усиливающими и регулируемыми процессы возбуждения. Среди наиболее значимых признаков следует выделить улучшение когнитивных функций, ноотропные, анксиолитические, умеренные антидепрессивные свойства, связанные, по всей видимости, с механизмами ингибирования обратного захвата серотонина (СИОЗС), норадреналина и допамина. При этом наименее всего в фармако-ЭЭГ анализе прослеживаются седативное, анальгезирующее, миорелаксирующее и снотворное действия, отражающие предполагаемую взаимосвязь с центральными α_2 -адренорецепторами.

Выявление информативных параметров интрацентральных отношений головного мозга, в т. ч. на фоне влияния классических и вновь синтезированных средств, будет продолжено в дальнейшей научно-исследовательской работе.

Заключение

Показано, что изменения параметров НЭМ, наблюдаемые при воздействии регуляторных нейропептидов с ноотропными свойствами, информативно и убедительно отражают активность анализируемых участков мозга и являются маркерами преобразований интрацентральных отношений головного мозга животных.

В их эффектах, связанных с улучшением когнитивных функций, повышением адап-

Таблица. Анализ уровня нейропсихоактивности с помощью сопоставления эффектов НЭМ при действии Семакса с известными фармакологическими средствами

Table. Analysis of the neuropsychactivity level by comparing the effects of NBE under the action of Semax with known pharmacological agents

Биологически активные соединения сравнения	Процент сходства
Доксиламин	34
Ксилазин	19
Кофеин	79
Сертралин	62
Фенотропил	81
Мелатонин	30
Атомоксетин	38
Хлорпромазин	47
Кетамин	24
Фенамин	85
Галоперидол	33
Наком	77
Глутамат натрия	82
Гамма-аминомасляная кислота	75
Прегабалин	55
Габапентин	46
Аминофенилмасляная кислота	67

тогенных, антиоксидантных и др. защитных свойств организма, отражается значительная активация компетентных областей мозга, наиболее выраженно проявляющаяся в δ -, θ - и γ -диапазонах. Депримирующие элементы в области 55 Гц при действии данной группы препаратов характерны также и для многих психостимуляторов, особенно кофеина.

Посредством фармако-ЭЭГ анализа верифицированы активирующие и ноотропные свойства, убедительные сходства и различия в пределах фармакологических групп, а также подтверждены данные фармакодинамики и фармакокинетики, что позволяет считать анализ ЭГМ с помощью инновационных технологий — нормализации электрограмм мозга (НЭМ) перспективным методом биомедицинских и доклинических исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Ашмарин И.П., Незавибатко В.Н., Мясоедов Н.Ф., Каменский А.А., Гривенников И.А., Пономарева-Степная М.А., Андреева Л.А., Каплан А.Я., Кошелев В.Б., Рясина Т.В. Ноотропный аналог адренорекортикотропина 4–10-Семакс (15-летний опыт разработки и изучения). *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. 1997;47(2):429–430. [Ashmarin I.P., Nezavibat'ko V.N., Myasoedov N.F., Kamensky A.A., Grivennikov I.A., Ponomareva-Stepnaya M.A., Andreeva L.A., Kaplan A.Y., Koshelev V.B., Ryasina T.V. Nootropnyy analog adrenokortikotropina 4–10-Semaks (15-letniy opyt razrabotki i izucheniya) [Nootropic analogue of adrenocorticotropin 4–10-Semaks: (the experience of design and investigation over 15 years)]. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti im. I.P. Pavlova* [I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity]. 1997;47(2):429–430. (In Russian)].
2. Воробьева О.В. Ноотропные препараты — новые возможности известных лекарств. *Consilium Medicum*. 2008;10(2):110–113. [Vorob'eva O.V. Nootropnye preparaty — novye vozmozhnosti izvestnykh lekarstv [Nootropic drugs — new opportunities for well-known drugs]. *Consilium Medicum*. 2008;10(2):110–113. (In Russian)].
3. Воронина Т.А., Середин С.Б. Ноотропные препараты, достижения и новые проблемы. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 1998;61(4):3–9. [Voronina T.A., Seredenin S.B. Nootropnye preparaty, dostizheniya i novye problemy [Nootropic drugs, achievements and new problems]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya* [Experimental and Clinical Pharmacology]. 1998;61(4):3–9. (In Russian)].
4. Гусев Е.И. Проблема инсульта в России. *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова*. 2003;103(9):32–41. [Gusev E.I. Problema insul'ta v Rossii [The problem of stroke in Russia]. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova* [The Korsakov's Journal of Neurology and Psychiatry]. 2003;103(9):32–41. (In Russian)].
5. Каркищенко Н.Н. *Альтернативы биомедицины. Т. 2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии*. М.: Изд-во ВПК, 2007. [Karkischenko N.N. *Alternativy biomeditsiny. T. 2. Klassika i al'ternativy farmakotoksikologii* [Alternatives to biomedicine. Vol. 2. Classics and alternatives to pharmacotoxicology]. Moscow: VPK Publ., 2007. (In Russian)].
6. Каркищенко Н.Н. *Психонитропизм лекарственных средств*. М.: Медицина, 1993. [Karkischenko N.N. *Psikhounitropizm lekarstvennykh sredstv* [Psychunitropism of medicines]. Moscow: Medicina Publ., 1993. (In Russian)].
7. Каркищенко Н.Н. *Фармакология системной деятельности мозга*. Ростов: Ростиздат, 1975. [Karkischenko N.N. *Farmakologiya sistemnoy deyatel'nosti mozga* [Pharmacology of systemic activity of the brain]. Rostov: Rostizdat Publ., 1975. (In Russian)].
8. Каркищенко Н.Н., Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н., Табоjakова Л.А., Мокроусов М.И., Алимкина О.В. Конвергентная валидация интрацентральных отношений головного мозга животных. *Биомедицина*. 2017;3:16–39. [Karkischenko N.N., Fokin Yu.V., Karkischenko V.N., Taboyakova L.A., Mokrousov M.I., Alimkina O.V. Konvergentnaya validatsiya intratsentral'nykh otnosheniy golovnogo mozga zhivotnykh [Convergent validation of intracental relationships of the brain of animals]. *Biomedicina* [Journal Biomed]. 2017;3:16–39. (In Russian)].
9. Каркищенко Н.Н., Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н., Табоjakова Л.А., Харитонов С.Ю., Алимкина О.В. Новые подходы к оценке интрацентральных отношений по показателям оперантного поведения и электрограмм мозга кошек. *Биомедицина*. 2018;4:4–17. [Karkischenko N.N., Fokin Yu.V., Karkischenko V.N., Taboyakova L.A., Kharitonov S. Yu., Alimkina O.V. Noveye podkhody k otsenke intratsentral'nykh otnosheniy po pokazatelyam operantnogo povedeniya i elektrogramm mozga koshek [New approaches to the assessment of intracental relations in terms of operant behavior and electrograms of the cats brain]. *Biomedicina* [Journal Biomed]. 2018;4:4–17. (In Russian)].
10. Ковалев Г.В., Музыченко А.П. Применение ноотропов средств в психиатрии и наркологии. В кн.: *Ноотропные средства*. 1990:217–298. [Kovalev G.V., Muzychenko A.P. Primenenie nootropov sredstv v psikhiiatrii i narkologii [The use of nootropics in psychiatry and narcology]. In: *Nootropnye sredstva* [Nootropics]. 1990:217–298. (In Russian)].
11. Мосолов С.Н. Современные тенденции развития психофармакологии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 1998;98(5):12–19. [Mosolov S.N. Sovremennyye tendentsii razvitiya psikhofarmakologii [Modern trends in the development of psychopharmacology]. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova* [The Korsakov's Journal of Neurology and Psychiatry]. 1998;98(5):12–19. (In Russian)].
12. *Неврология. Национальное руководство*. Под ред. Гусева Е.И., Коновалова А.Н., Скворцовой В.И., Гехт А.Б. 2-е изд., перераб. и доп., в двух томах. М., 2009. [Nevrologiya. Natsional'noe rukovodstvo [Neurology. National manual] Ed. by Gusev E.I., Konovalov A.N., Skvortsova V.I., Gekht A.B. 2nd edition. Moscow, 2009. (In Russian)].
13. Пизова Н.В. Когнитивные нарушения в детском возрасте. *Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum*. 2011;4:8–10. [Pizova N.V. Kognitivnyye narusheniya v detskom vozraste

- [Cognitive impairment in childhood]. *Pediatrics. Prilozhenie k zhurnalu Consilium Medicum* [Pediatrics. Supplement to Consilium Medicum Journal]. 2011;4:8–10. (In Russian)].
14. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. Под ред. Н.Н. Каркищенко и др. М.: Профиль-2С, 2010. [*Rukovodstvo po laboratornym zivotnym i al'ternativnym modelyam v biomeditsinskikh issledovaniyakh* [Manual on laboratory animals and alternative models in biomedical research]. Ed. by N.N. Karkischenko, et al. Moscow: Profil'-2S Publ., 2010. (In Russian)].
15. Сковрцова В.И., Стаховская Л.В., Ефремова Н.М., Шамалов Н.А., Шетова И.М. Применение нейропротектора «Семакс 1%» в первые часы и дни острого церебрального инсульта. Методические рекомендации для практического здравоохранения. М., 2011. [Skvortsova V.I., Stakhovskaya L.V., Efremova N.M., Shamalov N.A., Shetova I.M. Применение нейропротектора «Семакс 1%» в первые часы и дни острого церебрального инсульта. Методические рекомендации для практического здравоохранения. М., 2011. (In Russian)].
16. Справочник Видаль: Лекарственные препараты в России. М.: АстраФармСервис, 2002. [*Spravochnik Vidal': Lekarnstvennye preparaty v Rossii* [Vidal's Handbook: Medicines in Russia]. Moscow: AstraPharmService Publ., 2002. (In Russian)].
17. Штрыголь С.Ю., Кортунова Т.В., Штрыголь Д.В. Побочные эффекты ноотропных средств. Провизор. 2003;11. [Shtrygol S.Yu., Kortunova T.V., Shtrygol D.V. Pobochnye efekty nootropnykh sredstv [Side effects of nootropics]. *Provizor* [Pharmacist]. 2003;11. (In Russian)].

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

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

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

Yuriy V. Fokin*, Cand. Sci. (Biol.), Scientific
Center of Biomedical Technologies of the Federal
Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: fokin@scbmt.ru

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

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

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛКОВОГО, ЛИПИДНОГО И УГЛЕВОДНО-ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА У КРЫС В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА И ИХ КОМБИНАЦИЙ

М.Ю. Раваева^{1,*}, И.В. Черетаев¹, Е.Н. Чуян¹, П.А. Галенко-Ярошевский^{2,3}

¹ ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»
295007, Российская Федерация, Республика Крым, Симферополь, пр-т Академика Вернадского, 4

² ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России
350063, Российская Федерация, Краснодар, ул. им. Митрофана Седина, 4

³ ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
308015, Российская Федерация, Белгород, ул. Победы, 85

В статье представлены результаты изучения показателей белкового, липидного и углеводно-энергетического обмена у крыс в условиях воздействия острого (ОС) и хронического гипокинетического стресса (ГС) и их комбинаций. Показано, что ГС и его комбинации с ОС в той или иной степени снижали показатели белкового обмена, являясь причиной отрицательного азотистого баланса в организме; повышали показатели липидного обмена, являющиеся факторами атерогенеза в организме (уровень общего холестерина, триглицеридов, липопротеиды низкой плотности); достоверно повышали уровень глюкозы и снижали активность креатининкиназы. ОС, ГС и их комбинации достоверно увеличивали активность лактатдегидрогеназы.

Ключевые слова: белковый обмен, липидный обмен, углеводно-энергетический обмен, острый стресс, хронический гипокинетический стресс, перекрёстная адаптация

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена в рамках проекта РНФ № 23-24-00332 «Тканевая микрогемодинамика: механизмы антистрессорного действия низкоинтенсивного миллиметрового излучения».

Для цитирования: Раваева М.Ю., Черетаев И.В., Чуян Е.Н., Галенко-Ярошевский П.А. Показатели белкового, липидного и углеводно-энергетического обмена у крыс в условиях воздействия острого и хронического гипокинетического стресса и их комбинаций. *Биомедицина*. 2023;19(2):16–26. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-16-26>

Поступила 06.03.2023

Принята после доработки 11.05.2023

Опубликована 10.06.2023

PROTEIN, LIPID AND CARBOHYDRATE-ENERGY METABOLISM INDICES IN RATS UNDER ACUTE AND CHRONIC HYPOKINETIC STRESS AND THEIR COMBINATIONS

Marina Y. Ravaeva^{1,*}, Igor V. Cheretaev¹, Elena N. Chuyan¹,
Pavel A. Galenko-Yaroshevskii^{2,3}

¹ V.I. Vernadsky Crimean Federal University
295007, Russian Federation, Republic of Crimea, Simferopol, Akademika Vernadskogo Ave., 4

² Kuban State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia
350063, Russian Federation, Krasnodar, Mitrofana Sedina Str., 4

³ Belgorod State National Research University
308015, Russian Federation, Belgorod, Pobedy Str., 85

This article presents the research findings regarding protein, lipid, and carbohydrate-energy metabolism indices in rats under acute (AS) and chronic hypokinetic stress (HS) and their combinations. HS and its combinations with AS were found to decrease protein metabolism indices to various extents, causing a negative nitrogen balance in the body. HS and its combinations with AS increased lipid metabolism indices, which are the factors of atherogenesis in the body (levels of total cholesterol, triglycerides, low density lipoproteins). HS and its combinations with AS increased the glucose level and decreased the creatinine kinase activity, with the values being statistically significant. AS and HS and their combinations increased significantly the lactate dehydrogenase activity.

Keywords: protein metabolism, lipid metabolism, carbohydrate-energy metabolism, acute stress, chronic hypokinetic stress, cross-adaptation

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

Funding: the work was carried out within the framework of the RSF project No. 23-24-00332 “Tissue microhemodynamics: mechanisms of the anti-stress action of low-intensity millimeter radiation”.

For citation: Ravaeva M.Y., Cheretaev I.V., Chuyan E.N., Galenko-Yaroshevskii P.A. Protein, Lipid and Carbohydrate-Energy Metabolism Indices in Rats under Acute and Chronic Hypokinetic Stress and their Combinations. *Journal Biomed.* 2023;19(2):16–26. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-16-26>

Submitted 06.03.2023

Revised 11.05.2023

Published 10.06.2023

Введение

Известно, что стресс, обусловленный воздействием различных факторов внешней и внутренней среды, приводит к многочисленным стресс-индуцированным изменениям в организме, которые стимулируют развитие его адаптационной реакции (АР) к неблагоприятным воздействиям [2]. К таким изменениям, в первую очередь, следует отнести изменения обмена белков, липидов, углеводно-энергетического обмена при развитии АР, которые связаны с постепенным повышением уровня функционирования организма и увеличением энергозатрат и по-

требности в белках [8]. Ожирение, нарушения липидного обмена, диабет 2-го типа, высокое кровяное давление и ишемическая болезнь сердца являются следствием стресс-индуцированных нарушений изменений метаболизма липидов и углеводов, а такое заболевание как почечная недостаточность — одно из последствий нарушения белкового обмена [9]. Интенсивность и длительность воздействия на организм отдельных стресс-факторов и закономерности их сочетанного воздействия — «перекрёстная адаптация» — являются предметом пристального внимания различных исследователей [2, 6, 8].

Цель данной работы — изучить показатели белкового (БО), липидного (ЛО) и углеводно-энергетического обмена (УЭО) у крыс в условиях воздействия острого (ОС) и хронического гипокинетического стресса (ГС) и их комбинаций (ОС-ГС и ГС-ОС).

Материалы и методы

Экспериментальные животные

Животных, участвующих в эксперименте, содержали в стандартных условиях вивария при температуре 18–22 °С с естественным 12-часовым свето-темновым циклом, свободным доступом к воде (ГОСТ 33215-2014) и полноценному гранулированному корму (ГОСТ Р-50258-92). Исследование проведено в соответствии с ГОСТ Р-53434-2009 и правилами Директивы Европейского парламента и Совета от 22.09.2010 «О защите животных, используемых в научных целях».

В эксперименте использовались 50 лабораторных крыс-самцов Wistar (ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово») одинакового возраста массой 180–200 г со средним уровнем двигательной активности и низким уровнем эмоциональности, которые были предварительно отобраны в тесте «Открытое поле».

Дизайн исследований

Крысы-самцы были разделены на 5 групп по 10 особей в каждой. Животные I группы являлись биологическим контролем и находились в стандартных условиях вивария; II группы (ОС) — подвергались действию ОС; III группы — ГС; IV группы (ГС-ОС) — последовательному действию ГС (1–10-е сут эксперимента) и ОС (10-е сут эксперимента); V группы (ОС-ГС) — предварительному воздействию ОС (в 1-е сут эксперимента), а затем действию ГС (4–13-е сут).

ОС был индуцирован в модели теста вынужденного плавания [22] в бассейне в течение 60 мин (уровень воды — 30 см, температура воды — 20 °С). За 24 ч

до стрессорного воздействия животные всех групп были лишены пищи при свободном доступе к воде.

ГС моделировали ограничением подвижности (гипокинезия), что достигалось помещением крыс в специальные фиксаторы для крыс AE1001-R1 из прозрачного полипропилена (ООО «НПК Открытая Наука», Россия), в которых они находились в течение 10 сут по 20 ч. В течение остальных 4 ч проводили экспериментальные исследования, кормление и уход за животными.

Забой экспериментальных животных осуществляли утром в 10⁰⁰ натошак путём декапитации на гильотине («НПК Открытая наука, Россия»). Кровь отбирали в вакуумные пробирки с разделительным гелем для сыворотки. Материалом для исследований служила сыворотка крови, полученная двукратным центрифугированием по 10 мин при 1300 g при 25 °С. В сыворотке крови анализировали лабораторные показатели, характеризующие состояние БО, ЛО и УЭО, на автоматическом биохимическом анализаторе ERBA-XL-180 («ErbaLachema», Чехия) с использованием фирменных наборов реагентов, предназначенных для работы на этом приборе. Для оценки БО в сыворотке крови определяли уровень общего белка, альбумина, мочевины, мочевой кислоты и креатинина. Анализ уровня общего белка в сыворотке крови выполняли биуретовым методом [17], альбумина — в реакции с бромкрезоловым зелёным [16], мочевины — уреазным кинетическим ферментативным методом [16], мочевой кислоты — уриказно-пероксидазным двухреагентным методом [18], креатинина — кинетическим методом Яффе (без депротеинизации) [16]. Чтобы оценить состояние ЛО в сыворотке крови крыс, анализировали уровень общего холестерина, триглицеридов, прямого холестерина липопротеидов низкой (ЛПНП) и высокой плотности

(ЛПВП). Концентрацию общего холестерина определяли по методу Триндера с реагентами на основе разработки Аллена и др. в модификации Roeschlau [13, 23]. Содержание ЛПВП и ЛПНП определяли с помощью холестериноксидазной реакции и количественного метода Триндера [14, 20, 21]. Для оценки УЭО в сыворотке крови анализировали уровень глюкозы и активность ферментов лактатдегидрогеназы и креатининкиназы. Уровень глюкозы определяли методом Триндера [14], активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) — оптимизированным кинетическим методом Генри с пируватом [19, 25], а активности креатининкиназы — методом согласно [25].

Статистические методы обработки результатов исследований

Достоверность различий относительно контрольной группы определяли с помощью непараметрического критерия множественных сравнений Данна. Данные представлены в виде среднего арифметического и его ошибки, их статистический анализ выполнен в программном пакете Graph Pad Prism 7.0.

Результаты и их обсуждение

Результаты проведённого анализа показателей БО в сыворотке крови крыс в норме,

в условиях ОС, ГС, ОС-ГС и ГС-ОС представлены в табл. 1.

Общий белок (ОБ). Уровень ОБ (табл. 1) в контрольной группе (n=10) и при ОС (n=10) практически не отличался от физиологической нормы, приведённой в специализированной литературе [7, 11].

При ГС (n=10) уровень ОБ достоверно снижался на 18,5% ($p \leq 0,05$; табл. 1), при этом данный показатель снижался относительно нижней границы нормы, т. е. наблюдалась гипопроотеинемия. Это может быть связано с повышенным распадом белков до аминокислот и тратой т. н. «резерва белков» на синтез жизненно необходимых белков и пептидов сердечной мышцы, головного мозга, важных регуляторных пептидов в условиях длительного стресса. Данная ситуация могла дополнительно усугубляться нарушением нормального режима питания и его ограничением в условиях гипокинезии (свободный доступ к корму обеспечивался только 4 ч в сутки). По данным литературы [12], в условиях ограниченного доступа к пище усиливается расход «резерва белков» для поддержания уровня вышеуказанных жизненно необходимых белков и пептидов в организме.

В условиях ОС-ГС (n=10, табл. 1) уровень ОБ достоверно не отличался от контрольной группы.

Таблица 1. Показатели белкового обмена у крыс в условиях воздействия острого и хронического гипокинетического стресса и их комбинаций

Table 1. Protein metabolism indices in rats under acute and chronic hypokinetic stress and their combinations

Показатель	Контроль	ОС	ГС	ОС-ГС	ГС-ОС
Общий белок, г/л	72,11±1,65 100,0%	73,84±1,56 102,4%	58,74±1,77* 81,5%	64,99±1,31 90,1%	53,33±2,05** 73,9%
Альбумин, г/л	29,73±0,81 100,0%	30,41±0,82 102,3%	24,60±0,92 82,8%	26,10±0,66 87,8%	21,06±1,38 70,8%
Мочевина, ммоль/л	7,70±0,20 100,0%	7,94±0,22 103,1%	6,10±0,11* 79,2%	6,61±0,11 85,8%	5,34±0,19*** 69,4%
Мочевая кислота, мкмоль/л	122,00±2,66 100,0%	119,40±2,22 97,9%	98,43±1,93** 80,7%	106,60±1,23* 87,4%	93,29±2,21*** 76,5%
Креатинин, ммоль/л	43,43±0,45 100,0%	43,47±0,56 100,1%	31,26±0,45** 72,0%	30,99±0,76** 71,4%	30,46±0,68** 70,3%

Примечание: *, **, *** — достоверность различий по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$ и $p \leq 0,001$ соответственно.

Note: *, **, *** — statistically significant compared to the control at $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.001$ respectively.

В условиях воздействия ГС-ОС (n=10) уровень ОБ достоверно снизился на 26% относительно контрольной группы ($p \leq 0,05$; табл. 1) — гипопроотеинемия. Возможно, что воздействие сильного и продолжительного стресс-фактора в сочетании с ограничением свободного доступа к пище сначала привело к дефициту белкового пула в организме крыс. Последующее воздействие ОС могло вызвать окончательное истощение функциональных белковых резервов организма и, как следствие, падение уровня ОБ. Полученные данные согласуются с известными сведениями о гипопроотеинемии у животных и человека при частичном голодании [12]. Известно также, что дефицит белков может наблюдаться и при ряде других патологических состояний. Так, расстройства пищеварения могут сопровождаться нарушением переваривания и всасывания белков (патологические и воспалительные процессы при гастритах, нарушениях функций поджелудочной железы), усилением распада белков в тканях при абсцессах и гангренах [3]. В данном эксперименте в группах животных ГС и ГС-ОС наблюдалось увеличение повреждений шерстяного покрова, кожных воспалительных реакций в области брюшины, что является косвенным подтверждением наличия, по крайней мере, хотя бы одного из таких патологических состояний.

Указанные изменения оказались более выраженными при ГС-ОС, чем в остальных случаях. Это свидетельствует о более сильном повреждающем эффекте такой комбинации стрессорных факторов по сравнению с остальными стрессорными воздействиями, которые использовались в нашем эксперименте.

Альбумин. Уровень альбумина в контрольной группе (n=10) и у животных, подвергавшихся воздействию ОС (n=10) и ГС (n=10), а также воздействию ОС-ГС (n=10), достоверно не отличался между собой (табл. 1) и не выходил за пределы физио-

логической нормы, известной в литературе [7, 11].

После воздействия ГС-ОС (n=10) уровень альбумина достоверно снизился на 29,2% ($p \leq 0,01$; табл. 1) относительно контрольной группы, что свидетельствует о выраженной гипоальбуминемии. Дефицит альбумина может отражать повышенную потерю этого транспортного белка и общее нарушение БО на фоне какого-либо активно протекающего патологического процесса — нарушений функций почек, печени, других органов пищеварительной системы, внутренних кровотечений, кожных и внутренних воспалительных процессов [9].

Мочевина. Уровень мочевины (табл. 1) в контрольной группе (n=10) находился в границах физиологической нормы, известной по литературным данным [7]. При ОС (n=10) и ОС-ГС (n=10) данный показатель (табл. 1) практически не отличался от значений контроля (n=10).

При ГС (n=10) концентрация мочевины достоверно снижалась на 20,3% ($p \leq 0,05$; табл. 1), а при воздействии ГС-ОС (n=10) наблюдалось достоверное снижение концентрации мочевины на 30,6% ($p \leq 0,001$). Это свидетельствует о нарушении белкового обмена в условиях ограничения доступа к пище и нарушения режима питания и указывает на возможное наличие патологических изменений функций печени, явившихся причиной нарушения синтеза мочевины [12]. При этом очевидно, что такие изменения оказались более выраженными при воздействии ГС-ОС, чем только при воздействии ГС. Это согласуется и с обнаруженным снижением уровня альбумина, наблюдавшимся в данной группе крыс, что также может быть отражением возможной патологии печени [12].

Мочевая кислота (МК). В контрольной группе (n=10) и при ОС (n=10) концентрация МК (табл. 1) практически не отличалась от физиологической нормы [7]. При воздействии ОС-ГС (n=10) наблюдалось не-

достоверное снижение концентрации МК, что указывает на некоторое снижение потребления пуринов с пищей [12].

При воздействии ГС (n=10), ОС-ГС (n=10) и ГС-ОС (n=10) наблюдалось достоверное снижение концентрации МК (табл. 1) на 19,3% ($p \leq 0,01$), 12,6% ($p \leq 0,05$) и 23,5% ($p \leq 0,001$) соответственно по сравнению с контрольной группой. Это свидетельствует о гипоурикемии — уменьшении экскреции почками МК. Она может наблюдаться из-за сахарного диабета, онкопатологий [12], поэтому её наличие указывает на общий сильный повреждающий эффект ГС в отношении висцеральных органов и систем, и на ещё в более выраженный аналогичный эффект комбинированного воздействия ГС-ОС.

Креатинин. Уровень креатинина (табл. 1) в контрольной группе (n=10) и группе, подвергавшейся воздействию ОС (n=10), не выходил за пределы физиологической нормы [7].

После воздействия ГС и его комбинаций (ОС-ГС и ГС-ОС) наблюдалось достоверное снижение концентрации креатинина почти на 30% ($p \leq 0,01$; табл. 1). Снижение данного показателя свидетельствует о существенном снижении мышечной массы согласно [12] в условиях иммобилизации.

Результаты определения показателей ЛО в сыворотке крови крыс в норме, в условиях ОС, ГС, ОС-ГС и ГС-ОС представлены в табл. 2.

Общий холестерин (ОХС). Уровень ОХС (табл. 2) в контроле (n=10) практически не отличался от физиологической нормы, известной по литературным данным [7, 11]. При ОС (n=10) этот показатель также достоверно не отличался от значений контроля (n=10).

При ГС (n=10) уровень ОХС достоверно повышался на 16,2% ($p \leq 0,05$; табл. 2), при этом данный показатель выходил за пределы физиологической нормы [7, 11], т. е. наблюдалась гиперхолестеринемия. Это может быть связано с нарушением подвижности, отсутствием активной мышечной деятельности и работы, низкими энергозатратами в условиях гипокинезии, что препятствует расходу ОХС в организме и способствует его накоплению. Повышение уровня ОХС, согласно существующим представлениям [10], свидетельствует о мобилизации ТГ из жировых депо и увеличении атерогенного риска, а полученные результаты согласуются с литературными данными относительно влияния гипокинезии на уровень ОХС.

В условиях воздействия ОС-ГС (n=10) уровень ОХС не отличался от контрольной группы.

В условиях воздействия ГС-ОС (n=10) уровень ОХС достоверно повышался на 15,4% относительно контрольной группы ($p \leq 0,05$; табл. 2), т. е. наблюдалась гиперхолестеринемия, которая незначительно ослаблялась последующим ОС. Наблюдаемые

Таблица 2. Показатели липидного обмена у крыс в условиях воздействия острого и хронического гипокинетического стресса и их комбинаций

Table 2. Lipid metabolism indices in rats under acute and chronic hypokinetic stress and their combinations

Показатель	Контроль	ОС	ГС	ОС-ГС	ГС-ОС
Общий холестерин, ммоль/л	1,77±0,12 100,0%	1,64±0,10 92,5%	2,06±0,09* 116,2%	1,94±0,12 109,5%	2,04±0,10* 115,4%
Триглицериды, ммоль/л	0,98±0,07 100,0%	0,91±0,08 93,1%	1,20±0,07** 122,8%	1,10±0,10 111,8%	1,17±0,09* 119,0%
ЛПНП, ммоль/л	0,78±0,09 100,0%	0,67±0,06 85,9%	1,02±0,07* 130,8%	0,96±0,10 123,1%	1,14±0,09** 146,2%
ЛПВП, ммоль/л	0,54±0,05 100,0%	0,56±0,06 103,7%	0,49±0,05 90,7%	0,48±0,04 88,9%	0,46±0,09 85,2%

Примечание: * ** — достоверность различий по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$ соответственно.

Note: *, ** — statistically significant compared to the control at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$ respectively.

нарушения ЛО могут быть свидетельством развития ряда неблагоприятных патологических состояний в организме. Так, данное явление может сопровождать гипотиреоз, гиперинсулинемию, нарушения функций поджелудочной железы и печени [12].

Триглицериды (ТГ). Уровень ТГ в контрольной группе (n=10) и у животных, подвергавшихся воздействию ОС (n=10), достоверно не отличался между собой (табл. 2).

После воздействия ГС (n=10) уровень ТГ достоверно вырос на 22,8% ($p \leq 0,01$; табл. 2) относительно контрольной группы, что свидетельствует о выраженной гипертриглицеридемии и подтверждает высказанное выше предположение о мобилизации ТГ из жировых депо в условиях воздействия данной комбинации стресс-факторов. Гипертриглицеридемия может отражать состояние гипотиреоза, нарушения функций поджелудочной железы, почек, печени [12].

В условиях воздействия ОС-ГС (n=10) уровень ТГ достоверно не отличался от контрольной группы.

В условиях воздействия ГС-ОС (n=10) уровень ТГ достоверно повышался на 19% относительно контрольной группы ($p \leq 0,05$; табл. 2), т. е. в результате хронического воздействия наблюдалась гипертриглицеридемия, которая незначительно ослаблялась последующим острым стрессом.

ЛПНП. Концентрация ЛПНП в контрольной группе (n=10) находилась в грани-

цах физиологической нормы (табл. 2) [11]. При остром стрессе (n=10) этот показатель практически не отличался от значений контроля (n=10).

При воздействии ГС и различных комбинаций ОС и ГС уровень ЛПНП достоверно возрастал (табл. 2): на 30,8% ($p \leq 0,05$) при воздействии ГС (n=10), на 46,2% — ГС-ОС (n=10). Последний оказывал наиболее выраженный эффект на уровень ЛПНП, свидетельствующий о наибольшем атерогенном действии [12] данной комбинации стресс-факторов.

ЛПВП. Как видно из табл. 2, у всех ЛПВП у всех групп животных — контрольной и со стрессорным воздействием различной длительности и интенсивности и их комбинаций — данный показатель не отличался от физиологической нормы [11].

Результаты измерений показателей углеводно-энергетического обмена в сыворотке крови крыс в норме, в условиях ОС, ГС, ОС-ГС, ГС-ОС и их комбинированного воздействия представлены в табл. 3.

Глюкоза. Уровень глюкозы (табл. 3) контрольной группы животных (n=10) и при ОС (n=10) практически не отличался от физиологической нормы [11].

При ГС (n=10) уровень глюкозы достоверно повышался на 23,8% ($p \leq 0,01$; табл. 3), данный показатель существенно превышал физиологическую норму — наблюдалась выраженная гипергликемия. Это может быть связано с нарушением подвижности,

Таблица 3. Показатели углеводно-энергетического обмена у крыс в условиях воздействия острого и хронического гипокинетического стресса и их комбинаций

Table 3. Carbohydrate-energy metabolism indices in rats under acute and chronic hypokinetic stress and their combinations

Показатель	Контроль	ОС	ГС	ОС-ГС	ГС-ОС
Глюкоза, г/л	3,79±0,16 100,0%	4,18±0,21 110,2%	4,69±0,17** 123,8%	4,81±0,19** 127,0%	4,68±0,24** 123,5%
Лактат-дегидрогеназа, Ед./л	360,00±23,33 100,0%	428,41±25,00* 119,0%	462,60±19,98** 128,5%	432,72±17,67* 120,2%	493,20±23,42** 137,0%
Креатинин-киназа, Ед./л	195,09±28,07 100,0%	177,53±25,26 91,0%	130,71±16,84* 67,0%	122,52±22,46* 62,8%	115,10±27,8* 59,0%

Примечание: *, ** — достоверность различий по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$ соответственно.
Note: *, ** — statistically significant compared to the control at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$ respectively.

отсутствием активной мышечной деятельности и работы, низкими энергозатратами в условиях гипокинезии и с мобилизацией глюкозы из депо в условиях ограничения доступа к пище. Это препятствовало расходу глюкозы в организме и способствовало её накоплению. Также в условиях нарушения БО, которое, как было показано выше, происходило при таком виде стресса, могло негативно отразиться на функциональном состоянии β -клеток поджелудочной железы и, следовательно, на продукции инсулина [9]. Согласно данным [1], выраженная гипергликемия наблюдается и при более кратковременной иммобилизации (в течение 8 сут по 4 ч) у активных крыс на 1-е и у пассивных на 3-и сут иммобилизации. В нашем случае стрессорное воздействие, усиленное в 5 раз по длительности, приводило к более устойчивым изменениям метаболизма глюкозы.

В условиях воздействия ОС-ГС ($n=10$) уровень глюкозы был существенно выше, чем в контрольной группе (почти на 27%; $p \leq 0,01$; табл. 3). По-видимому, превентивное воздействие ОС могло активировать САС организма, метаболические процессы и усилить мобилизацию глюкозы из депо во время ОС и в начальную фазу последовавшего за ним ГС. Затем действие ГС снизило расход глюкозы на двигательную активность, а мобилизация глюкозы из депо, скорее всего, продолжилась из-за частичного голодания, запуска стрессорных гормональных реакций и нарушений функций органов пищеварения, и, возможно, в результате недостаточной секреции инсулина.

В условиях комбинированного воздействия ГС-ОС ($n=10$) уровень глюкозы достоверно повышался на 23,5% относительно контрольной группы ($p \leq 0,01$; табл. 3), т. е. в результате хронического воздействия наблюдалась гипергликемия, которая незначительно ослаблялась последующим ОС, в результате которого мог произойти частичный расход глюкозы на мышечную

работу во время плавания. Наблюдаемые нарушения углеводного обмена могут быть свидетельством развития ряда неблагоприятных патологических состояний в организме. Так, данное явление может сопровождать нарушения функций поджелудочной железы и печени [12]. Указанные изменения свидетельствует о выраженном эффекте ГС на рост уровня глюкозы в крови и её мобилизации из гликогена печени.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ). Данный показатель отражает скорость процессов лактатного анаэробного энергообразования в мышцах в условиях интенсивной мышечной работы, определяет готовность анаэробной системы энергообеспечения организма к высокой физической нагрузке [4, 5]. Уровень ЛДГ в контрольной группе ($n=10$) был в пределах физиологической нормы (табл. 3) [11].

В группах животных (табл. 3), подвергавшихся воздействию ОС ($n=10$), ГС ($n=10$), ОС-ГС ($n=10$), ГС-ОС ($n=10$), наблюдалось достоверное увеличение активности ЛДГ на 19% ($p \leq 0,05$), 28,2% ($p \leq 0,01$), 20,2% ($p \leq 0,05$) и 37% ($p \leq 0,01$) относительно контроля соответственно. Это свидетельствует об увеличении ЛДГ анаэробного механизма энергообразования в мышцах в условиях стрессорного воздействия факторов различной длительности и интенсивности и о снижении окисления глюкозы в условиях гипокинезии. В условиях ОС при повышенном расходе глюкозы может наблюдаться усиление путей альтернативного энергообразования, в частности лактатдегидрогеназного, в связи с повышенными энергозатратами.

Креатининкиназа (КК). Креатинфосфокиназный механизм образования энергии рассматривается как биохимический маркер срочной адаптации [5]. В контрольной группе ($n=10$) и при ОС ($n=10$) активность КК находилась в границах физиологической нормы (табл. 3), известной по литературным данным [7].

При воздействии ГС и различных комбинаций ОС и ГС активность КК достоверно уменьшалась ($p \leq 0,05$, табл. 3): на 33% — при воздействии ГС ($n=10$), на 37,2% — комбинации ОС-ГС ($n=10$) и на 41% — ГС-ОС ($n=10$). Последняя комбинация оказывала наиболее выраженный эффект на уровень активности КК, свидетельствующий о наибольшем снижении креатининкиназного анаэробного механизма энергообразования в условиях такой комбинации стрессирующих факторов [12].

В целом, снижение активности КК при использовании различных видов стресса и их комбинаций указывает на снижение мышечной массы (прежде всего, сердечной мышцы), интоксикацию печени продуктами метаболизма, снижение креатининкиназного анаэробного механизма энергообразования и адаптивных возможностей организма [12].

Выводы

1. ОС не оказывает существенного влияния на показатели БО лабораторных крыс, а ГС и его комбинации с ОС снижают показатели БО, являясь причиной отрицательного азотистого баланса в организме. Снижение показателей БО усиливается в ряду: ОС-ГС (достоверно снижался лишь креатинин) — ГС (достоверное снижение уровня ОБ, мочевины, МК и креатинина) — ГС-ОС (достоверное снижение уровня ОБ, альбумина, мочевины, МК и креатинина).

2. ОС не оказывает существенного влияния на ЛО лабораторных крыс, а ГС и его комбинации с ОС повышают показатели ЛО, являющиеся факторами атерогенеза в организме (уровень ОХС, ТГ, ЛПНП). Степень атерогенного риска увеличивалась в ряду: ОС-ГС — ГС (достоверно повышался уровень ОХС, ТГ, ЛПНП, ЛПНП), ГС-ОС (достоверно повышался уровень ОХС, ТГ, ЛПНП).

3. ГС и его комбинации с ОС достоверно повышали уровень глюкозы и снижали креатининкиназный механизм анаэробного энергообразования. ОС и ГС и их комбинации достоверно увеличивали ЛДГ механизм анаэробного энергообразования, что свидетельствует о повышении готовности организма к мышечным нагрузкам в условиях стресса. Более выраженный характер изменений активности ЛДГ наблюдался при воздействии ГС и ГС-ОС.

4. Показатели БО и ЛО, ЛДГ механизма анаэробного энергообразования в условиях стресса подвержены модифицирующему влиянию других факторов при их превентивном воздействии — «перекрёстной адаптации». Изменения УЭО и креатининкиназного анаэробного механизма энергообразования в условиях стресса определяются действием наиболее сильнейшего фактора и не подвержены адаптационным перестройкам под влиянием превентивного воздействия более слабого фактора.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Абрамова А.Ю., Перцов А.С., Коплик Е.В., Перцов С.С. Влияние экспериментального хронического стресса на состояние углеводного обмена у крыс с разными характеристиками поведения. *Бюллетень медицинской науки*. 2018;9(1):21–25. [Abramova A.Yu., Pertsov A.S., Koplik E.V., Pertsov S.S. Vliyanie eksperimental'nogo khronicheskogo stressa na sostoyanie uglevodnogo obmena u krys s raznymi kharakteristikami povedeniya [Influence of experimental chronic stress on the state of carbohydrate exchange in rats with different characteristics of behavior]. *Byulleten' meditsinskoy nauki [Bulletin of Medical Science]*. 2018;9(1):21–25. (In Russian)].
2. Агаджанян Н.А., Коновалова Г.М., Ожева Р.Ш., Уракова Т.Ю. Воздействие внешних факторов на формирование адаптационных реакций организма человека. *Новые технологии*. 2010;2:142–144. [Aghajanian N.A., Konovalova G.M., Ozheva R.S., Urakova T.Y. Vozdeystvie vneshnikh faktorov na formirovanie adaptatsionnykh reaktsiy organizma cheloveka [The effect of external factors

- on the formation of adaptive reactions in human body]. *Novye tekhnologii* [New Technologies]. 2010;2:142–144. (In Russian)].
- Бородин Е.А. Биохимия и клиническая лабораторная диагностика. Благовещенск: Амурская ГМА Минздрава России, 2021. [Borodin E.A. *Biokhimiya i klinicheskaya laboratornaya diagnostika* [Biochemistry and clinical laboratory diagnostics]. Blagoveshchensk: Amurskaya GMA Minzdrava Rossii, 2021. (In Russian)].
 - Бутова О.А., Масалов С.В. Адаптация к физическим нагрузкам: анаэробный метаболизм мышечной ткани. *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Биология*. 2011;1:123–128. [Butova O.A., Masalov S.V. Adaptatsiya k fizicheskim nagruzkam: anaerobnyy metabolizm myshechnoy tkani [Adaptation to physical exercise: Anaerobic metabolism of muscular tissue]. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo. Biologiya* [Vestnik of Lobachevsky University of Nizhni Novgorod. Biology]. 2011;1:123–128. (In Russian)].
 - Ганеева Л.А., Скрипова В.С., Касатова Л.В., Набиуллина Р.М., Абрамова З.И. Оценка некоторых биохимических параметров энергетического обмена у студентов-легкоатлетов после продолжительной нагрузки. *Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки*. 2013;155(1):40–49. [Ganeeva L.A., Skripova V.S., Kasatova L.V., Nabiullina R.M., Abramova Z.I. Otsenka nekotorykh biokhimicheskikh parametrov energeticheskogo obmena u studentov-legkoatletov posle prodolzhitel'noy nagruзки [Assessment of some biochemical parameters of energy metabolism in student-athletes after prolonged exercise]. *Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta. Seriya Estestvennyye nauki* [Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series]. 2013;155(1):40–49. (In Russian)].
 - Глазачев О.С., Крыжановская С.Ю. Адаптационная медицина: стратегия психофизиологического приспособления человека к критически измененной окружающей среде. *Вестник Международной академии наук. Русская секция*. 2019;1:48–55. [Glazachev O.S., Kryzhanovskaya S.Yu. Adaptatsionnaya meditsina: strategiya psikhofiziologicheskogo prispособleniya cheloveka k kriticheski izmenennoy okruzhayushchey srede [Adaptive medicine: Human psychophysiological adaptation strategy to a critically altered environment]. *Vestnik Mezhdunarodnoy akademii nauk. Russkaya sektiya* [Herald of the International Academy of Science. Russian Section]. 2019;1:48–55. (In Russian)].
 - Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев: Вища школа, 1983. [Zapadnyuk I.P., Zapadnyuk V.I., Zahariya E.A. *Laboratornye zhivotnye. Razvedenie, содержание, использование в эксперименте*. Kiev: Vishcha shkola, 1983. (In Russian)].
 - Зенько М.Ю., Рыбникова Е.А. Перекрёстная адаптация: от Ф.З. Меерсона до наших дней. Ч. 1. Адаптация, перекрёстная адаптация и перекрёстная сенсibilизация. *Успехи физиологических наук*. 2019;50(4):3–13. [Zenko M.Yu., Rybnikova E.A. Perekrestnaya adaptatsiya: ot F.Z. Meersona do nashikh dnei. Ch. 1. Adaptatsiya, perekrestnaya adaptatsiya i perekrestnaya sensibilizatsiya [Cross adaptation: From F.Z. Meerson to the modern state of the problem. Part 1. Adaptation, cross-adaptation and cross-sensitization]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk* [Achievements of physiological sciences]. 2019;50(4):3–13. (In Russian)]. DOI: 10.1134/S0301179819040088.
 - Клёнова Н.А. Биохимия патологических состояний. Самара: Самарский университет, 2006. [Klyonova N.A. *Biokhimiya patologicheskikh sostoyaniy* [Biochemistry of pathological conditions]. Samara: Samarskiy universitet Publ., 2006. (In Russian)].
 - Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. СПб.: Питер, 1995. [Klimov A.N., Nikulcheva N.G. *Lipidy, lipoproteidy i ateroskleroz* [Lipids, lipoproteins and atherosclerosis]. Saint-Petersburg: Piter Publ., 1995. (In Russian)].
 - Макаров В.Н., Макарова М.Н. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. СПб.: ЛЕМА, 2013. [Makarov V.N., Makarova M.N. *Spravochnik. Fiziologicheskie, biokhimicheskie i biometricheskie pokazateli normy eksperimental'nykh zhivotnykh* [Guide. Physiological, biochemical and biometric indicators of the norm of experimental animals]. Saint-Petersburg: LEMA Publ., 2013. (In Russian)].
 - Небыльцова О.В., Климова Ж.А., Носенко Г.А., Бойко И.В., Клишняя М.А., Чернышова Л.А., Князева Л.П., Маликова С.В., Данилова И.Е., Абашева С.Н., Дегтяренко О.А., Прищепа Л.А. Лабораторный справочник Синэво. Киев: Доктор-Медиа, 2011. [Nebylcova O.V., Klimova Zh.A., Nosenko G.A., Bojko I.V., Klishnya M.A., Chernyshova L.A., Knyazeva L.P., Malikova S.V., Danilova I.E., Abasheva S.N., Degtyarenko O.A., Prishchepa L.A. *Laboratornyy spravochnik Sinevo* [Synevo Laboratory Reference]. Kiev: Doktor-Media Publ., 2011. (In Russian)].
 - Allain C., Poon L., Chan G., Richmond W., Fu C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem*. 1974;20(4):470–475.
 - Barcham D., Trinder P. An improved color reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. *Analyst*. 1972;97(151):142–145. DOI: 10.1039/ah9729700142.

15. Barr D.P., Russ E.M., Eder H.A. Protein-lipid relationships in human plasma. II. In atherosclerosis and related conditions. *Am. J. Med.* 1951;11(4):480–493. DOI: 10.1016/0002-9343(51)90183-0.
16. Burtis C.A., Ashwood E.R., Bruns D.E. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 5th ed.* St. Louis: Elsevier, 2012.
17. Cornall A.G., Bardawill C.J., David M.M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 1949;177(2):751–766.
18. Fossati P., Prencipe L., Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin. Chem.* 1980;26(2):227–231.
19. Henry R.J., Chiamori N., Golub O.J., Berkman S. Revised spectrophotometric methods for the determination of glutamic-oxalacetic transaminase, glutamic-pyruvic transaminase, and lactic acid dehydrogenase. *Am. J. Clin. Path.* 1960;34:381–398. DOI: 10.1093/ajcp/34.4_ts.381.
20. Nauk M., Wiebe D., Warnick G. *Measurement of high-density-lipoprotein cholesterol. Handbook of lipoprotein testing. 2nd ed.* Washington DC: AACC Press, 2001:221–244.
21. Pisani T., Gebiski C.P., Leary E.T., Warnick G.R., Ollington J.F. Accurate direct determination of low-density lipoprotein as accurate direct determination of low-density lipoprotein assay. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1995;119(12):1127–1135.
22. Porsolt R.D., McArthur R.A., Lenegre A. *Psychotropic screening procedures.* In: *Methods in Behavioral Pharmacology.* Amsterdam: Elsevier, 1993:23–51. DOI: 10.1016/B978-0-444-81444-9.50007-9.
23. Roeschlau P., Bernt E., Gruber W.A. Enzymatische Bestimmung des Gesamt-Cholesterins in serum. *Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1974;12(5):226–227.
24. Schumann G., Bonora R., Ceriotti F., Clerc-Renaud P., Ferrero C.A., Féraud G., Franck P.F., Gella F.J., Hoelzel W., Jørgensen P.J., Kanno T., Kessner A., Klauke R., Kristiansen N., Lessinger J.M., Linsinger T.P., Misaki H., Panteghini M., Pauwels J., Schimmel H.G., Vialle A., Weidemann G., Siekmann L. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 3. Reference procedures for the measurement of catalytic concentrations of lactate dehydrogenase. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2002;40(6):643–648. DOI: 10.1515/CCLM.2002.111.
25. Stein W. *Creatine kinase (total activity), creatine kinase isoenzymes and variants.* In: *Clinical laboratory diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results.* Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998:71–80.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Раваева Марина Юрьевна*, к.б.н., доц.,
ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»;
e-mail: ravaevam@yandex.ru

Черетаев Игорь Владимирович, к.б.н.,
ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»;
e-mail: cheretaev86@yandex.ru

Чуян Елена Николаевна, д.б.н., проф.,
ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»;
e-mail: elena-chuyan@rambler.ru

Галенко-Ярошевский Павел Александрович, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»;
e-mail: Galenko.Yarochevsky@gmail.com

Marina Y. Ravaeva*, Cand. Sci. (Biol.),
Assoc. Prof., V.I. Vernadsky Crimean Federal University;
e-mail: ravaevam@yandex.ru

Igor V. Cheretaev, Cand. Sci. (Biol.), V.I. Vernadsky Crimean Federal University;
e-mail: cheretaev86@yandex.ru

Elena N. Chuyan, Dr. Sci. (Biol.), Prof.,
V.I. Vernadsky Crimean Federal University;
e-mail: elena-chuyan@rambler.ru

Pavel A. Galenko-Yaroshevskii, Dr. Sci. (Med.),
Prof., Corresponding Member of the RAS, Kuban State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia, Belgorod State National Research University;
e-mail: Galenko.Yarochevsky@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В АДДИКТИВНОМ ПОВЕДЕНИИ ВЗРОСЛЫХ КРЫС: ЭФФЕКТЫ ПРЕНАТАЛЬНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

П.К. Анохин, Т.В. Проскурякова*, В.А. Шоханова, В.С. Кохан, И.Е. Тарабарко,
И.Ю. Шамакина

*Национальный научный центр наркологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России
119002, Российская Федерация, Москва, Малый Могильцевский пер., 3*

Употребление алкоголя во время беременности является одним из факторов риска неврологических, нервно-психических дисфункций и аддиктивного поведения у потомства, однако биологические основы этих эффектов пренатальной алкоголизации (ПА) до сих пор плохо изучены. Принимая во внимание, что экстрагипоталамическая система кортикотропин-рилизинг фактора (corticotropin-releasing factor, CRF) играет ключевую роль в регуляции аффективного состояния на фоне употребления алкоголя и его отмены, целью настоящего исследования было изучение: 1) влияния ПА на добровольное потребление алкоголя взрослыми крысами Wistar в режиме постоянного или «прерывистого» («питьё в темноте») доступа; 2) различий в базальных уровнях экспрессии мРНК CRF и его рецептора CRFR1 в миндалине взрослых ПА и контрольных крыс; 3) влияния добровольного потребления алкоголя взрослым потомством на уровень мРНК CRF и CRFR1 в миндалине. В обеих моделях алкоголизации у самцов, но не у самок, с ПА было обнаружено значимое увеличение добровольного потребления алкоголя по сравнению с соответствующими контрольными группами. Через 24 ч после первого эпизода отмены только у самцов с ПА отмечался более высокий уровень тревожности в тесте «светлая/тёмная камера». Базальные уровни мРНК CRF и CRFR1 в миндалине не различались между ПА и контрольными крысами обоих полов. При употреблении алкоголя у ПА и контрольных самцов также не было выявлено различий в уровне мРНК CRF в миндалине. У самок с ПА уровень мРНК CRF был снижен по сравнению с контрольной группой на фоне отсутствия тревожно-подобного поведения и увеличения потребления этанола. Таким образом, полученные данные показали, что эффект ПА на потребление алкоголя в будущем зависит от пола, но не связан с нарушением экспрессии мРНК CRF и CRFR1 в миндалине.

Ключевые слова: алкоголь, беременность, аддиктивное поведение, миндалина, мРНК, кортикотропин-рилизинг фактор

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Анохин П.К., Проскурякова Т.В., Шоханова В.А., Кохан В.С., Тарабарко И.Е., Шамакина И.Ю. Половые различия в аддиктивном поведении взрослых крыс: эффекты пренатальной алкоголизации. *Биомедицина*. 2023;19(2):27–36. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-27-36>

Поступила 20.02.2023

Принята после доработки 25.05.2023

Опубликована 10.06.2023

SEX DIFFERENCES IN ADDICTIVE BEHAVIOR OF ADULT RATS: EFFECTS OF PRENATAL ALCOHOL EXPOSURE

Petr K. Anokhin, Tatyana V. Proskuryakova*, Vera A. Shokhonova, Victor S. Kokhan,
Irina E. Tarabarko, Inna Yu. Shamakina

*National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Center
for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia
11900, Russian Federation, Moscow, Maliy Mogiltsevskiy Lane, 3*

Alcohol experienced during gestation is associated with the development of neurodevelopmental and neuropsychiatric dysfunctions, as well as addictive behavior in the offspring. However, the biological basis of these effects remains poorly understood. Taking into account that the extrahypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) system plays an important role in regulation of the negative emotional state produced by alcohol abuse and withdrawal, the present study was aimed at investigating: 1) the effect of prenatal alcohol exposure (PA) on voluntary alcohol drinking (free choice 24 hours/day) or intermittent (“drinking in the dark”) regimen in adult Wistar rats; 2) differences in the basal gene expression levels of CRF and CRF-R1 in amygdala of adult PA and control rats; and 3) the effect of voluntary alcohol drinking on the above mRNA levels. PA males displayed a significantly greater voluntary alcohol intake than control males as observed by both drinking paradigms. 24 hours after the first withdrawal episode, PA males demonstrated a higher level of anxiety in the light-dark box test. No differences were found between PA and control females. Basal amygdalar CRF and CRFR1 mRNA levels did not differ between PA and control rats of both sexes. No difference was observed in the amygdalar CRF and CRFR1 mRNA levels after alcohol drinking in PA and control males. Conversely, the CRF mRNA levels in amygdala of PA female rats decreased under the action of alcohol consumption, compared to control female rats. The results show that the PA effect on future alcohol-related behavior is sex-specific, but do not support the hypothesis that changes in CRF and CRFR1 mRNA levels in amygdala may be responsible for high alcohol intake in males.

Keywords: alcohol, pregnancy, addictive behavior, amygdala, mRNA, corticotropin-releasing factor

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

For citation: Anokhin P.K., Proskuryakova T.V., Shokhonova V.A., Kokhan V.S., Tarabarko I.E., Shamakina I.Yu. Sex Differences in Addictive Behavior of Adult Rats: Effects of Prenatal Alcohol Exposure. *Journal Biomed.* 2023;19(2):27–36. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-27-36>

Submitted 20.02.2023

Revised 25.05.2023

Published 10.06.2023

Введение

Роль эпигенетических нарушений, развивающихся под влиянием экзогенных факторов в критические периоды развития и формирования фенотипа взрослого организма, является важной фундаментальной проблемой. Один из таких факторов — алкоголь, воздействие которого в период пренатального онтогенеза может приводить к развитию физиологических, поведенческих, аффективных, когнитивных нарушений в подростковом и взрослом возрасте [5, 21]. Среди наиболее сложных и актуальных

проблем, связанных с влиянием пренатальной алкогольной интоксикации, можно выделить вероятность риска аддиктивного поведения в подростковом и взрослом возрасте [6, 11, 18, 22]. Показано, что 46% подростков, перенёсших пренатальную алкогольную интоксикацию, злоупотребляют алкоголем в возрасте старше 21 года, при этом характерной особенностью является раннее начало первых проб алкоголя [19]. Нейрохимические и молекулярные механизмы, лежащие в основе этого феномена, до сих пор мало изучены. Опираясь

на данные о значении экстрагипоталамической системы стресса в механизмах острого и хронического действия алкоголя [12, 13, 16, 20] и ключевой роли миндалины мозга в реализации подкрепляющих эффектов этанола и развитии анксиогенеза в остром периоде синдрома отмены алкоголя [15], в настоящем исследовании нами проведена экспериментальная проверка гипотезы о возможной связи аддитивного поведения пренатально алкоголизированных крыс с нарушением транскрипции кортикотропин-рилизинг фактора (corticotropin-releasing factor, CRF) и его рецептора (CRFR1) в миндалине мозга. Учитывая важность фактора пола в трансляционных исследованиях аддитивных расстройств [17], нами было проведено сравнительное изучение эффектов пренатальной алкоголизации на потребление алкоголя и экспрессию мРНК CRF и CRFR1 у взрослых самцов и самок крыс.

Материалы и методы

Работа выполнена на аутбредных крысах Wistar (филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России) с соблюдением Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных, требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г., с приложением от 15.06.2006), правил Совета Европейского сообщества (Директива 86/609/ЕЕС в пересмотре от 14.11.2005 и Директива 2010/63/EU от 22.09.2010), а также Принципов надлежащей лабораторной практики (ГОСТ Р 53434-2009). На протяжении всех этапов исследования животных содержали в условиях естественной освещенности, при температуре 22 ± 2 °С. В качестве пищевого рациона использовали гранулированный корм (ГОСТ Р 50258-92). Соблюдены все положения, в т. ч. использование минималь-

ного количества животных, которое требуется для получения научно достоверных результатов. Протокол эксперимента соответствовал этическим принципам и нормам проведения биомедицинских исследований с участием животных и был одобрен этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ ПН им. В.П. Сербского» Минздрава России.

Спаривание животных осуществлялось путём подсаживания двух половозрелых самок (PND60, PND — постнатальные дни) к одному самцу на 3-и сут. На протяжении всей беременности (с 1-го по 21-й дни) самки опытной группы получали 10%-ный р-р этанола в качестве единственного источника жидкости, контрольные самки содержались в условиях водного режима. В период вскармливания детёныши содержались по одному выводку в клетке вместе с матерью в условиях водного режима, а по окончании вскармливания (PND21) отсаживались от матери, и самцов и самок-сисюв распределяли по отдельным клеткам. По достижении половозрелого возраста (PND60) потомство было разделено на 4 группы: пренатально алкоголизированные (ПА) самцы и самки; контрольные (К) самцы и самки, не подвергавшиеся пренатальному воздействию алкоголя. Часть животных была помещена в индивидуальные клетки в условия «свободного выбора» между 10%-ным р-ром этанола и воды с последующим переходом на прерывистое потребление алкоголя («питьё в темноте»), когда свободный выбор предоставлялся на 12 ч во время тёмной фазы суток с последующей заменой этанола на воду на 36 ч [3] (рис. 1).

Потребление этанола и воды измеряли ежедневно на протяжении всего эксперимента, и уровень потребления алкоголя выражали в граммах на килограмм массы животного (г/кг). В исследование были также включены группы ПА и контрольных животных обоего пола соответствующего возраста, не подвергавшиеся алкоголизации

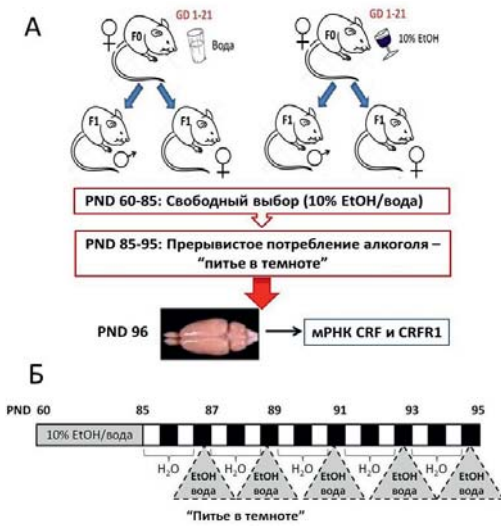


Рис. 1. Дизайн эксперимента. А — Самки опытной группы с 1-го по 21-й дни беременности получали 10%-ный р-р этанола в качестве единственного источника жидкости, контрольные самки содержались в условиях водного режима. Взрослое потомство (PND60) было помещено в индивидуальные клетки в условия постоянного доступа к 10%-ному р-ру этанола и воде с последующим переходом на прерывистое потребление алкоголя («питьё в темноте»). Б — Схема алкоголизации потомства.

Примечание: PND — постнатальные дни (postnatal days); GD — дни гестации (gestation days).

Fig. 1. Experimental design. А — Females of the experimental group received 10% ethanol solution as the only source of fluid throughout the gestational period (GD 1-21); control females received water. Adult offspring (PND60) were housed individually with continuous access to two bottles with 10% ethanol and water followed by intermittent access ("drinking in the dark" regimen). Б — Scheme of alcohol exposure in the offspring.

Note: PND — postnatal day; GD — gestation days.

во взрослом возрасте. Оценка двигательной активности и уровня тревожности у потомства осуществлялась в экспериментальной модели тревоги («светлая/тёмная камера»,

TSE, Германия) через 24 ч после первого эпизода отмены алкоголя. Через 24 ч после последнего эпизода отмены алкоголя животных (PND96) декапитировали, миндалину выделяли на холоде, и в дальнейшем образцы хранили при -70°C .

Уровень экспрессии мРНК CRF и CRFR1 определяли, используя ПЦР в режиме реального времени после обратной транскрипции на амплификаторе CFX Connect Real-Time PCR System («BioRad», Германия). Тотальную РНК выделяли из структур мозга животных с помощью набора «RNeasy Lipid Tissue Mini Kit» («QIAGEN», Нидерланды). 1 мкг тотальной РНК использовали в реакции обратной транскрипции для синтеза кДНК с помощью набора «RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit» («Fermentas», США). В качестве референсного был выбран ген β -актина. При проведении ПЦР использовались опубликованные последовательности олигонуклеотидных праймеров («ДНК-синтез», Россия) (табл. 1). Амплификацию проводили в 25 мкл смеси, содержащей 25 нг матрицы (кДНК), праймеры в конечной концентрации 0,4 мкМ и 5 мкл 5 $\times$ реакционной смеси qPCRmix-HS SYBR с интеркалирующим красителем SYBR Green I («Евроген», Россия) в течение 40 циклов (исходная денатурация матрицы — 3 мин при 95°C ; денатурация — 15 сек при 95°C ; отжиг праймеров — 15 сек при 60°C ; элонгация — 30 сек при 72°C) с последующим анализом кривых плавления полученных продуктов амплификации.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программного комплекса Statistica 12 («StatSoft Inc.», США).

Таблица 1. Последовательности олигонуклеотидных праймеров, использованных при проведении полимеразной цепной реакции

Table 1. Oligonucleotide primers for polymerase chain reaction

Ген, кодирующий:	Праймеры	
	Прямой	Обратный
CRF	5'-ctgtcgcctctgtctgccttc-3'	5'-gttgctggggctgctccggtt-3'
CRFR1	5'-ctctgggatgtcggagcgatcca-3'	5'-cagtgaccaggttagttgat-3'
β -актин	5'-cactgcgcgcatcctcttctct-3'	5'-aacgcctcattgccgatagtg-3'

Данные представлены в виде: среднее $\pm$ стандартное отклонение (SD). Критерий Шапиро — Уилка (W-критерий) был использован для оценки нормальности распределения признака в выборке; в случае $p > 0,05$ распределение считали гауссовым и применяли параметрические методы статистики. Данные анализировались с помощью однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA). Апостериорный тест Дункана применяли при обнаружении статистически значимых отличий. Для оценки межгрупповых различий уровня мРНК использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок. Достоверными считали различия при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Тестирование животных в условиях свободного выбора при постоянном доступе к алкоголю (PND60-85) не выявило достоверных различий между пренатально алкоголизированными и контрольными животными, а также между самками и самцами. Уровень среднесуточного потребления алкоголя в первую неделю тестирования составил: группа «Самцы К» — $2,3 \pm 0,66$ г/кг, группа «Самцы ПА» — $2,84 \pm 0,88$ г/кг; группа «Самки К» — $2,28 \pm 0,62$ г/кг, группа «Самки ПА» — $2,3 \pm 1,05$ г/кг. Полученные данные опровергают одну из существующих гипотез, связывающую высокий уровень потребления алкоголя у пренатально

алкоголизированных животных с возможным нарушением вкусовых предпочтений и снижением аверсивного эффекта алкоголя при его первых пробах [23]. В процессе дальнейшего тестирования во всех группах животных наблюдался рост потребления алкоголя, показатели которого на последней неделе в группе «Самцы ПА» были значимо выше, чем в группе «Самцы К» ($7,5 \pm 1,8$ и $4,5 \pm 0,97$ г/кг соответственно; $p < 0,05$), тогда как у самок значимых различий не наблюдалось («Самки ПА» — $4,1 \pm 1,21$ г/кг, «Самки К» — $4,0 \pm 1,4$ г/кг). Таким образом, при постоянном доступе к алкоголю ПА усиливала рост потребления у самцов, но не у самок крыс.

В модели «питьё в темноте» после первого эпизода отмены потребление алкоголя в тёмное время суток в группе «Самцы ПА» также было значимо выше, чем в группе «Самцы К» ($4,3 \pm 0,25$ г/кг/12 ч vs. $2,85 \pm 0,85$ г/кг/12 ч; $p < 0,05$), тогда как потребление алкоголя в опытной и контрольной группах самок достоверно не различалось ($2,5 \pm 0,5$ г/кг/12 ч vs. $2,56 \pm 0,72$ г/кг/12 ч). Вместе с тем после второго эпизода отмены алкоголя потребление алкоголя во всех группах претерпело значительный прирост (табл. 2). Дальнейшее тестирование выявило устойчивое значимое превышение потребления в группе «Самцы ПА» по сравнению с контрольной группой, тогда как в группе пренатально алкоголизированных самок

Таблица 2. Потребление этанола (в г/кг массы) крысами в модели «прерывистое потребление» («питьё в темноте»)

Table 2. Ethanol consumption (g/kg) in rats during repeated cycles of free-choice ethanol intake and withdrawal with the use of intermittent access to 10% ethanol (“drinking in the dark”)

Группы животных	Потребление алкоголя (г/кг/12 ч)				
	1	2	3	4	5
«Самцы К» (n=8)	$2,85 \pm 0,85$	$3,9 \pm 0,6$	$2,2 \pm 0,5$	$3,2 \pm 0,5$	$3,2 \pm 1,5$
«Самцы ПА» (n=8)	$4,3 \pm 0,25^*$	$6,4 \pm 1,4^*$	$4,9 \pm 1,1^*$	$5,4 \pm 0,7^*$	$5,0 \pm 1,7^*$
«Самки К» (n=8)	$2,5 \pm 0,5$	$5,3 \pm 1,1$	$2,7 \pm 0,7$	$4,0 \pm 0,8$	$4,6 \pm 0,8$
«Самки ПА» (n=8)	$2,56 \pm 0,72$	$6,8 \pm 1,7^{\#}$	$3,2 \pm 0,44$	$5,1 \pm 1,2$	$4,3 \pm 0,4$

Примечание: * — $p < 0,05$ по сравнению с группой «Самцы К»; $^{\#}$ — $p < 0,05$ по сравнению с группой «Самки ПА» после первого эпизода отмены.

Note: * — $p < 0,05$ relative to Group “Males, Control”; $^{\#}$ — $p < 0,05$ relative to Group “Females, Control” after the first withdrawal episode.

Таблица 3. Поведение потомства после первого эпизода отмены алкоголя в тесте «светлая/тёмная камера»
Table 3. Rat behavior measured in the light-dark box test after the first withdrawal episode

Группы животных	Тёмный отсек			Светлый отсек			Общая двигательная активность
	Входы	Пробег (y. е.)	Время (сек)	Входы	Пробег (y. е.)	Время (сек)	
«Самцы К» (n=8)	59,5±6,01	3794±301,4	755,6±126,4	49±5,7	3131,1±416,9	609,6±104,5	8821,4±693,4
«Самцы ПА» (n=8)	36,3±3,7	2269,3±247,2*	742,6±171,1	36,4±5,3	1941,1±340,7*	440,8±121,7	5664,6±476,0**
«Самки К» (n=8)	59,3±8,5	3350,1±480,5	692,3±130,3	51±7,4	3125,8±466,8	580,4±94,0	8579,3±1127,6
«Самки ПА» (n=8)	59,5±10,7	3702,8±397,0	779,8±120,2	59,3±9,4	2924,4±328,1	595,4±117,5	8516,4±827,5

Примечание: * — $p < 0,05$ по сравнению с группой «Самцы К»; ** — $p < 0,15$ по сравнению с группой «Самцы К».
Note: * — $p < 0,05$ relative to Group “Males, Control”; ** — $p < 0,01$ relative to Group “Males, Control”.

отмечалась лишь тенденция к увеличению потребления этанола (табл. 2).

В тесте «светлая/тёмная камера» претерпели статистически значимые изменения следующие характеристики поведения пренатально алкоголизированных самцов: пройденное расстояние в светлом отсеке ($F_{1,14}=5,216$; $p=0,0385$), в тёмном отсеке ($F_{1,14}=15,134$; $p=0,016$) и общая двигательная активность ($F_{1,14}=13,4$; $p=0,0026$) по сравнению с самцами контрольной группы. Животные группы «Самцы ПА» в сравнении с группой «Самцы К» отличались меньшим пробегом в светлом отсеке — на 62%, и меньшей суммарной пройденной дистанцией — на 64%. У «Самок ПА» не отмечалось достоверных различий ни по одному из показателей по сравнению с самками контрольной группы. Таким образом, у пренатально алкоголизированных самцов, но не у самок, наблюдалось снижение ориентировочно-исследовательской активности в новой среде, что может свидетельствовать о повышенном уровне тревоги на фоне отмены алкоголя (табл. 3).

Мы предположили, что в основе повышенного уровня потребления алкоголя и тревожности в состоянии отмены у пренатально алкоголизированных самцов может лежать изменение экспрессии мРНК CRF и/или его рецептора CRFR1 в миндалине [9]. Однако мы не обнаружили значимых различий уровня мРНК CRF между группами прена-

тально алкоголизированных и контрольных самцов, как не подвергавшихся алкоголизации (рис. 2А), так и после алкоголизации в режиме «питьё в темноте» (рис. 2В).

Интересно, что для группы «Самки ПА» было показано достоверное снижение уровня мРНК CRF после алкоголизации по сравнению с группой «Самки К» (на 34%, $p < 0,05$) (рис. 2Г).

Мы также не обнаружили значимых различий уровня мРНК CRFR1 между группами как пренатально алкоголизированных и контрольных самцов, так и пренатально алкоголизированных и контрольных самок (рис. 3).

Важная роль экстрагипоталамической CRF-системы в «продуцировании» выраженных аффективных расстройств, в т. ч. тревожных состояний, на фоне отмены алкоголя многократно обсуждалась в работах зарубежных и отечественных авторов [4, 7, 14]. Была сформулирована гипотеза («kindling»/stress hypothesis), согласно которой повторные эпизоды отмены алкоголя на фоне хронической алкоголизации приводят к долговременной сенситизации — усилению стресс-реактивности, состояния тревоги и депрессии, одним из механизмов которой может быть нарушение функций миндалины [8]. Изучение экспрессии мРНК CRF в миндалине в экспериментальных моделях алкогольной зависимости проводили, главным образом, с использованием инб-

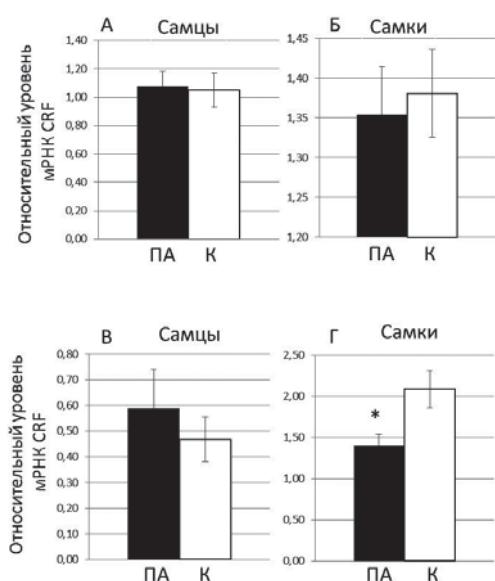


Рис. 2. Относительный уровень мРНК CRF в миндалине пренатально алкоголизованных (ПА) и контрольных (К) крыс: животные, не потреблявшие алкоголь во взрослом возрасте (А, Б), и животные после хронической алкоголизации (В, Г).

Примечание: * — $p < 0,05$ по сравнению с группой «Самки К».

Fig. 2. Relative CRF mRNA expression level in the amygdala of prenatally alcohol exposed (ПА) and control (К) rats: alcohol-free as adults (А, Б), alcohol-experienced in adulthood (В, Г).

Note: * — $p < 0.05$ relative to Group "Females, Control".

редных линий крыс. Так, при длительной хронической алкоголизации были выявлены изменения уровня мРНК CRF в нейронах центрального ядра миндалины у крыс инбредной линии Sardinian с высоким и низким уровнем предпочтения алкоголя (Sardinian alcohol-preferring (sP) и Sardinian non-alcohol-preferring (sNP) соответственно) [24]. Было установлено, что крысы sP имели более высокий уровень экспрессии мРНК CRF в миндалине по сравнению с крысами sNP. Добровольное потребление алкоголя в режиме свободного выбора между 10% р-ром этанола и водой приводило к снижению уровня мРНК CRF на фоне повышения уровня мРНК продинорфина в миндалине крыс sP [24]. Мы показали, что пренатально алко-

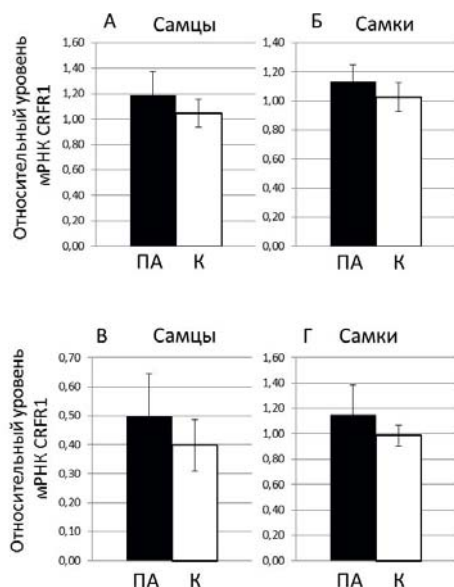


Рис. 3. Относительный уровень мРНК CRFR1 в миндалине пренатально алкоголизованных (ПА) и контрольных (К) крыс: животные, не потреблявшие алкоголь во взрослом возрасте (А, Б), и животные после хронической алкоголизации (свободный выбор + «питьё в темноте», В, Г).

Fig. 3. Relative CRFR1 mRNA expression level in the amygdala of prenatally alcohol exposed (ПА) and control (К) rats: alcohol-free as adults (А, Б), alcohol-experienced in adulthood (В, Г).

голизированные самцы, но не самки крыс, отличаются высоким уровнем потребления алкоголя и тревоги при использовании модели «прерывистого потребления» («питьё в темноте»). Однако в нашем исследовании не было выявлено значимых различий уровня мРНК CRF у пренатально алкоголизованных самцов по сравнению с контрольными самцами после хронической алкогольной интоксикации. Таким образом, изменение экспрессии мРНК CRF и CRFR1 в миндалине не является фактором, определяющим повышенный уровень тревоги и добровольного потребления алкоголя, наблюдаемые у пренатально алкоголизованных самцов.

Вместе с тем снижение экспрессии мРНК CRF в миндалине пренатально алкоголизи-

ванных самок на фоне отсутствия тревожно-подобного поведения и увеличения уровня потребления этанола можно рассматривать как один из протективных факторов формирования зависимости во взрослом возрасте. Следует отметить, что большинство доклинических исследований в экспериментальной наркологии проводилось, главным образом, на самцах грызунов, тогда как данные исследований последних лет [1, 2, 13, 17] свидетельствуют о важности и необходимости проведения сравнительного анализа нарушений с учётом фактора пола. В связи с этим выяснение молекулярных основ нарушений функций центральной нервной системы, в т. ч. лежащих в основе зависимого от пола аддиктивного поведения, у пренатально алкоголизированных животных приведёт к более полному пониманию патогенеза нарушений фетального алкогольного спектра.

Выводы

1. Пренатальная алкоголизация способствует увеличению добровольного по-

требления алкоголя у взрослых самцов, но не у самок крыс Wistar. Эти различия наблюдаются как при постоянном, так и при прерывистом доступе к алкоголю.

2. На фоне отмены алкоголя только у пренатально алкоголизированных самцов отмечены признаки тревожно-подобного поведения.

3. Результаты исследования не подтверждают предположение, что в основе повышенного уровня потребления алкоголя и тревожности в состоянии отмены у пренатально алкоголизированных самцов может лежать изменение экспрессии мРНК CRF и/или его рецептора CRFR1 в миндале.

4. Полученные результаты свидетельствуют о зависимом от пола влиянии потребления алкоголя матерью во время беременности на аддиктивное поведение потомства, что необходимо учитывать при проведении дальнейших трансляционных исследований механизмов нарушений фетального алкогольного спектра и разработке средств их профилактики и терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Проскурякова Т.В., Шоханова В.А., Анохин П.К., Тарабарко И.Е., Анохина И.П. Гендерные различия в поведении потомства крыс, употреблявших алкоголь до и во время беременности. *Вопросы наркологии*. 2018;10–11(170):40–54. [Proskuryakova T.V., Shohonova V.A., Anohin P.K., Tarabarko I.E., Anohina I.P. Gendernye razlichiya v povedenii potomstva kryss, upotrebyavshikh alkohol' do i vo vremya beremennosti [Gender differences in the behavior of the offspring of rats that consumed alcohol before and during pregnancy]. *Voprosy narkologii [Journal of Addiction Problems]*. 2018;10–11(170):40–54. (In Russian)].
2. Проскурякова Т.В., Анохин П.К., Шоханова В.А., Разумкина Е.В., Шамакина И.Ю. Половые различия уровня мРНК кортикотропин-рилизинг фактора, его рецептора в мозге и кортикостерона в крови у потомства самок крыс, употреблявших алкоголь до и во время беременности. *Вопросы наркологии*. 2019;12(183):66–80. [Proskuryakova T.V., Anohin P.K., Shohonova V.A., Razumkina E.V., Shamakina I.Iu. Polovye razlichiya urovnya mRНК kortikotropin-rilizing faktora, ego retseptora v mozge i kortikosterona v krvi u potomstva samok kryss, upotrebyavshikh alkohol' do i vo vremya beremennosti [Sex differences in the mRNA levels of corticotropin-releasing factor, its receptor in the brain, and corticosterone in the blood of the offspring of female rats that consumed alcohol before and during pregnancy]. *Voprosy narkologii [Journal of Addiction Problems]*. 2019;12(183):66–80. (In Russian)]. DOI: 10.47877/0234-0623_2019_12_66.
3. Проскурякова Т.В., Шоханова В.А., Шамакина И.Ю. Экспериментальные модели формирования физической зависимости от алкоголя. *Российский психиатрический журнал*. 2021;4:80–92. [Proskuryakova T.V., Shohonova V.A., Shamakina I.Iu. Eksperimental'nye modeli formirovaniya fizicheskoy zavisimosti ot alkogolya [Experimental models of the formation of physical dependence on alcohol]. *Rossiyskiy psikhiatricheskii zhurnal [Russian Journal of Psychiatry]*. 2021;4:80–92. (In Russian)]. DOI: 10.47877/1560-957X-2021-10409.
4. Шабанов П.Д., Лебедев А.А. Гормональные механизмы зависимости. Концепция гиперциркуляции в амигдало-гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе. *Экология человека*. 2009;8:19–24. [Shabanov P.D., Lebedev A.A. [Gormonal'nye mekh-

- anizmy zavisimosti. Kontseptsiya gipertsirkulyatsii v amigdalno-gipotalamo-gipofizarno-nadpocheknikovoy sisteme [Hormonal mechanisms of dependence. The concept of hypercirculation in the amygdala-hypothalamic-pituitary-adrenal system]. *Ehkologiya cheloveka* [Human ecology]. 2009;8:19–24. (In Russian)].
5. Alati R., Al Mamun A., Williams G.M., O'Callaghan M., Najman J.M., Bor W. In utero alcohol exposure and prediction of alcohol disorders in early adulthood: A birth cohort study. *Arch. Gen. Psychiatry*. 2006;63(9):1009–1016. DOI: 10.1001/archpsyc.63.9.1009.
 6. Baer J.S., Sampson P.D., Barr H.M., Connor P.D., Streissguth A.P. A 21-year longitudinal analysis of the effects of prenatal alcohol exposure on young adult drinking. *Arch. Gen. Psychiatry*. 2003;60(4):377–385. DOI: 10.1001/archpsyc.60.4.377.
 7. Breese G.R., Overstreet D.H., Knapp D.J., Navarro M. Prior multiple ethanol withdrawals enhance stress-induced anxiety-like behavior: Inhibition by CRF1- and benzodiazepine-receptor antagonists and a 5-HT1a-receptor agonist. *Neuropsychopharmacology*. 2005;30(9):1662–1669. DOI: 10.1038/sj.npp.1300706.
 8. Breese G.R., Overstreet D.H., Knapp D.J. Conceptual framework for the etiology of alcoholism: A “kindling”/stress hypothesis. *Psychopharmacology (Berl.)*. 2005;178(4):367–380. DOI: 10.1007/s00213-004-2016-2.
 9. Brunton P.J., Donadio M.V., Russell J.A. Sex differences in prenatally programmed anxiety behaviour in rats: Differential corticotropin-releasing hormone receptor mRNA expression in the amygdaloid complex. *Stress*. 2011;14(6):634–643. DOI: 10.3109/10253890.2011.604750.
 10. Heilig M., Koob G.F. A key role for corticotropin-releasing factor in alcohol dependence. *Trends Neurosci*. 2007;30(8):399–406. DOI: 10.1016/j.tins.2007.06.006.
 11. Honey P.L., Galef B.G. Jr. Ethanol consumption by rat dams during gestation, lactation and weaning increases ethanol consumption by their adolescent young. *Dev. Psychobiol*. 2003;42(3):252–260. DOI: 10.1002/dev.10098.
 12. Kirson D., Khom S., Rodriguez L., Wolfe S.A., Varodayan F.P., Gandhi P.J., Patel R.R., Vlkolinsky R., Bajo M., Roberto M. Sex differences in acute alcohol sensitivity of naïve and alcohol dependent central amygdala GABA synapses. *Alcohol Alcohol*. 2021;56(5):581–588. DOI: 10.1093/alcac/agab034.
 13. Kirson D., Steinman M.Q., Wolfe S.A., Spierling Bagsic S.R., Bajo M., Sureshchandra S., Oleata C.S., Messaoudi I., Zorrilla E.P., Roberto M. Sex and context differences in the effects of trauma on comorbid alcohol use and post-traumatic stress phenotypes in actively drinking rats. *J. Neurosci. Res*. 2021;99(12):3354–3372. DOI: 10.1002/jnr.24972.
 14. Merlo Pich E., Lorang M., Yeganeh M., Rodriguez de Fonseca F., Raber J., Koob G.F., Weiss F. Increase of extracellular corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity levels in the amygdala of awake rats during restraint stress and ethanol withdrawal as measured by microdialysis. *J. Neurosci*. 1995;15(8):5439–5447. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.15-08-05439.1995.
 15. Mineur Y.S., Garcia-Rivas V., Thomas M.A., Soares A.R., McKee S.A., Picciotto M.R. Sex differences in stress-induced alcohol intake: A review of preclinical studies focused on amygdala and inflammatory pathways. *Psychopharmacology (Berl.)*. 2022;239(7):2041–2061. DOI: 10.1007/s00213-022-06120-w.
 16. Roberto M., Kirson D., Khom S. The role of the central amygdala in alcohol dependence. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*. 2021;11(2):a039339. DOI: 10.1101/cshperspect.a039339.
 17. Rodriguez L., Kirson D., Wolfe S.A., Patel R.R., Varodayan F.P., Snyder A.E., Gandhi P.J., Khom S., Vlkolinsky R., Bajo M., Roberto M. Alcohol dependence induces CRF sensitivity in female central amygdala GABA synapses. *Int. J. Mol. Sci*. 2022;23(14):7842. DOI: 10.3390/ijms23147842.
 18. Spear N.E., Molina J.C. Fetal or infantile exposure to ethanol promotes ethanol ingestion in adolescence and adulthood: A theoretical review. *Alcohol. Clin. Exp. Res*. 2005;29(6):909–929. DOI: 10.1097/01.alc.0000171046.78556.66.
 19. Streissguth A.P., Bookstein F.L., Barr H.M., Sampson P.D., O'Malley K., Young J.K. Risk factors for adverse life outcomes in fetal alcohol syndrome and fetal alcohol effects. *J. Dev. Behav. Pediatr*. 2004;25(4):228–238. DOI: 10.1097/00004703-200408000-00002.
 20. Varodayan F.P., Patel R.R., Matzeu A., Wolfe S.A., Curley D.E., Khom S., Gandhi P.J., Rodriguez L., Bajo M., D'Ambrosio S., Sun H., Kerr T.M., Gonzales R.A., Leggio L., Natividad L.A., Haass-Koffler C.L., Martin-Fardon R., Roberto M. The amygdala noradrenergic system is compromised with alcohol use disorder. *Biol. Psychiatry*. 2022;91(12):1008–1018. DOI: 10.1016/j.biopsych.2022.02.006.
 21. Wozniak J.R., Riley E.P., Charness M.E. Clinical presentation, diagnosis, and management of fetal alcohol spectrum disorder. *Lancet Neurol*. 2019;18(8):760–770. DOI: 10.1016/S1474-4422(19)30150-4.
 22. Youngentob S.L., Molina J.C., Spear N.E., Youngentob L.M. The effect of gestational ethanol exposure on voluntary ethanol intake in early postnatal and adult rats. *Behav. Neurosci*. 2007;121(6):1306–1315. DOI: 10.1037/0735-7044.121.6.1293.
 23. Youngentob S.L., Glendinning J.I. Fetal ethanol exposure increases ethanol intake by making it smell and taste better. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2009;106(13):5359–5364. DOI: 10.1073/pnas.0809804106.

24. Zhou Y., Colombo G., Gessa G.L., Kreek M.J. Effects of voluntary alcohol drinking on corticotropin-releasing factor and preprodynorphin mRNA levels

in the central amygdala of Sardinian alcohol-preferring rats. *Neurosci. Lett.* 2013;554:110–114. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.08.071.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Анохин Пётр Константинович, к.б.н., Национальный научный центр наркологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России;
e-mail: petranokhin@mail.ru

Petr K. Anokhin, Cand. Sci. (Biol.), National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Center for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: petranokhin@mail.ru

Проскурякова Татьяна Васильевна*, д.б.н., Национальный научный центр наркологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России;
e-mail: tproskuryakova48@yandex.ru

Tatyana V. Proskuryakova*, Dr. Sci. (Biol.), National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Center for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: tproskuryakova48@yandex.ru

Шоханова Вера Алексеевна, к.б.н., Национальный научный центр наркологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России;
e-mail: verash51@rambler.ru

Vera A. Shokhonova, Cand. Sci. (Biol.), National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Center for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: verash51@rambler.ru

Кохан Виктор Сергеевич, к.б.н., Национальный научный центр наркологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России;
e-mail: victor_kohan@hotmail.com

Victor S. Kokhan, Cand. Sci. (Biol.), National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Center for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: victor_kohan@hotmail.com

Тарабарко Ирина Евгеньевна, Национальный научный центр наркологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России;
e-mail: irkul@mail.ru

Irina E. Tarabarko, National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Center for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: irkul@mail.ru

Шамакина Инна Юрьевна, к.б.н., Национальный научный центр наркологии — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России;
e-mail: shamakina@yahoo.com

Inna Yu. Shamakina, Cand. Sci. (Biol.), National Scientific Center for Narcology — Branch of the V.P. Serbsky National Medical Research Center for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: shamakina@yahoo.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПРИМЕНЕНИЯ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЯМЫХ ОРАЛЬНЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ С УЧЁТОМ ИХ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ

Е.В. Ганцгорн*, А.В. Сафроненко, Е.В. Губин, В.А. Власенко, Е.В. Рашкова, И.М. Маллеев, А.В. Иванов, С.С. Герасюта, Г.А. Булгурян, Я.О. Осипенко, О.В. Денисенко, Д.А. Саакян, М.Х. Иванова

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

Несмотря на доказанную эффективность и относительную безопасность прямых оральных антикоагулянтов (ПОАК), остаётся открытым вопрос снижения риска развития осложнений на фоне приёма препаратов данной группы в зависимости от генетического профиля пациентов, а также не разработан персонализированный подход к их выбору. Целью данной статьи является освещение актуальных сведений о целесообразности назначения ПОАК при различных заболеваниях, ассоциированных с гиперкоагуляцией, фармакогенетических аспектах применения ПОАК, обоснование рациональности проведения дальнейших исследований и, возможно, более широкого внедрения молекулярно-биологического анализа полиморфизма генов, наличие которого влияет на профиль эффективности и безопасности данных средств. В ходе работы были проанализированы источники из научных баз MedScape, PubMed, eLIBRARY.

Ключевые слова: прямые оральные антикоагулянты, фармакогенетика, дабигатран, ривароксабан, апиксабан

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Ганцгорн Е.В., Сафроненко А.В., Губин Е.В., Власенко В.А., Рашкова Е.В., Маллеев И.М., Иванов А.В., Герасюта С.С., Булгурян Г.А., Осипенко Я.О., Денисенко О.В., Саакян Д.А., Иванова М.Х. Актуальные вопросы применения и эффективности прямых оральных антикоагулянтов с учётом их фармакогенетических особенностей. *Биомедицина*. 2023;19(2):37–44. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-37-44>

Поступила 10.04.2023

Принята после доработки 15.05.2023

Опубликована 10.06.2023

CURRENT ISSUES OF THE USE AND EFFICACY OF DIRECT ORAL ANTICOAGULANTS ACCORDING THEIR PHARMACOGENETIC FEATURES

Elena V. Gantsgorn*, Andrey V. Safronenko, Evgeny V. Gubin, Viktoria A. Vlasenko, Ekaterina V. Rashkova, Ibragim M. Malleev, Artem V. Ivanov, Sergey S. Gerasyuta, Grigory A. Bulguryan, Yana O. Osipenko, Olga V. Denisenko, Darya A. Saakyan, Marina H. Ivanova

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

Despite the proven efficacy and relative safety of direct oral anticoagulants (DOAC), the issue of reducing the risk of complications associated with their use, depending on the genetic characteristics of patients,

remains controversial. A personalized approach to the selection of DOAC should be developed. In this article, we review the available information on the feasibility of prescribing DOAC to patients with various diseases associated with hypercoagulation and on pharmacogenetic aspects of the DOAC application. The need for further research is substantiated, along with the importance of a wider introduction of the molecular-biological analysis of gene polymorphisms, whose presence affects the efficacy and safety of these drugs. In the course of the work, publications from the MedScape, PubMed, and eLIBRARY databases were analyzed.

Keywords: direct oral anticoagulants, pharmacogenetics, dabigatran, rivaroxaban, apixaban

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

For citation: Gantsgorn E.V., Safronenko A.V., Gubin E.V., Vlasenko V.A., Rashkova E.V., Malleev I.M., Ivanov A.V., Gerasymova S.S., Bulguryan G.A., Osipenko Y.O., Denisenko O.V., Saakyan D.A., Ivanova M.H. Current Issues of the Use And Efficacy of Direct Oral Anticoagulants According their Pharmacogenetic Features. *Journal Biomed.* 2023;19(2):37–44. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-37-44>

Submitted 10.04.2023

Revised 15.05.2023

Published 10.06.2023

Применение прямых оральных антикоагулянтов (ПОАК) в Российской Федерации началось в начале 2000-х гг. На сегодняшний день данные лекарственные средства (ЛС) рекомендованы и широко используются для профилактики и лечения тромбоэмболических осложнений различного генеза: профилактики инсульта и системной тромбоэмболии у пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий (ФП), профилактики венозной тромбоэмболии после эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов, лечения тромбоза глубоких вен (ТГВ), тромбоэмболии лёгочной артерии и профилактики рецидивов [3, 9, 11]. Для перечисленных показаний при определённых условиях могут быть назначены основные «конкуренты» ПОАК — непрямые антикоагулянты, также имеющие пероральные формы применения. Преимущества ПОАК перед непрямыми антикоагулянтами заключаются, прежде всего, в простоте дозирования, отсутствии необходимости контроля международного нормализованного отношения (МНО) в процессе лечения, ограниченном взаимодействии с другими ЛС, а также коротком периоде полувыведения [10]. Однако наряду с преимуществами существуют факторы, ограничивающие применение данных ЛС. В частности,

существенным обстоятельством, снижающим частоту назначений ПОАК, является их высокая стоимость относительно «стандарта» среди не прямых антикоагулянтов — варфарина. При этом ривароксабан, дабигатрана этексилат и апиксабан входят в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов, подлежащих бесплатному или льготному отпуску для пациентов, нуждающихся в них по соответствующим показаниям.

Ввиду широкого применения ПОАК в современной клинической практике дальнейшее изучение предикторов их эффективности и безопасности, в т. ч. особенностей фармакогенетического профиля, представляется крайне важной фундаментальной задачей для клинической фармакологии. В связи с этим **целью** настоящего обзора литературы явился анализ актуальной информации о применении ПОАК в клинической практике с учётом их фармакогенетических особенностей.

Применение ПОАК в современной клинической практике

В настоящее время ПОАК введены в национальные клинические рекомендации по следующим нозологиям: ишемический инсульт и транзиторная ишемическая ата-

ка у взрослых [4]; острый инфаркт миокарда (ИМ) с подъёмом сегмента ST электрокардиограммы [2]; ТГВ [6]; флебит и тромбоз флебит поверхностных сосудов [8]; фибрилляция и трепетание предсердий у взрослых [7]; профилактика венозных тромбозомболических осложнений (ВТЭО) [5].

Выбор группы ПОАК в качестве первой линии профилактики нарушения мозгового кровообращения основан на достоверно меньшем риске развития внутримозговых кровотечений в сравнении с назначением основного «конкурента» — варфарина, а также отсутствием необходимости контроля МНО [4].

Рациональность назначения ПОАК при неклапанной форме ФП [7] подтверждают результаты исследования Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA), в котором сравнивались две группы пациентов с неклапанной ФП. Оно проводилось с целью определения относительного риска развития неблагоприятных исходов. Первая группа в качестве антикоагулянтной терапии получала варфарин, вторая — препараты группы ПОАК. Результаты исследования показали снижение ишемического инсульта на 20–29%, снижение риска развития внутримозгового кровоизлияния на 35–62%, общей смертности — на 19–34% у группы, принимавшей ПОАК, в сравнении с группой, принимавшей варфарин [1].

Проводится исследование, в котором изучается применение ПОАК при клапанной форме ФП. При анализе предварительных данных за год терапии ПОАК было отмечено развитие следующих осложнений: у 3,5% — ишемический инсульт, у 5,8% — крупные кровотечения [12]. Эти данные могут свидетельствовать о большей эффективности и безопасности ПОАК при клапанной форме ФП в сравнении с варфа-

рином, однако необходимо дождаться завершения клинических исследований для возможности формулирования окончательных выводов.

Согласно национальным клиническим рекомендациям по ТГВ конечностей, при назначении бессрочной антикоагулянтной терапии пациентам с указанной патологией следует назначать ПОАК (апиксабан 2,5 мг 2 раза в сутки или ривароксабан 10 мг 1 раз в сутки), т. к., в отличие от антагонистов витамина К, ЛС данной группы способствуют значительному снижению риска общей смертности [6].

Согласно национальным клиническим рекомендациям [2], при остром инфаркте миокарда ПОАК не являются антикоагулянтами первого выбора, но при сочетании ИМ и ФП преимущество отдают назначению ПОАК. Назначение ривароксабана в дополнение к двойной антиагрегантной терапии (ацетилсалициловая кислота + клопидогрел) рекомендовано в дозировке 2,5 мг 2 раза в сутки в течение одного года пациентам с низким риском развития кровотечений при отсутствии в анамнезе перенесённого инсульта после завершения терапии парентеральными антикоагулянтами. Назначение ривароксабана также рекомендуется пациентам с высоким коронарным риском после перенесённого ИМ.

Назначение ПОАК пациентам с механическим клапаном сердца или митральным стенозом умеренной и тяжёлой степени не рекомендовано из-за отсутствия данных об эффективности и безопасности применения. Переход на ПОАК после протезирования клапана сердца возможен после трёх месяцев приёма варфарина только в случае установки биологического протеза [7].

Для профилактики ВТЭО в травматологии и ортопедии может быть назначен апиксабан, дабигатрана этексилат или ривароксабан. Дабигатрана этексилат рекомендуется назначать пациентам с ТГВ с высоким риском развития кровотечения,

т. к. для данного ЛС имеется антидот — идаруцизумаб. Назначение ПОАК рекомендовано стабильным пациентам, у которых отсутствуют показания к выполнению тромболиза или операции, а также не выполнялось удаление тромба или установка кава-фильтра [5].

В настоящее время продолжают исследования в аспекте расширения списка клинических показаний для применения ПОАК, включая возможность внедрения ЛС данной группы в лечение тромботических заболеваний у детей.

Аспекты безопасности ПОАК

ПОАК обладают такими особенностями фармакокинетики, которые обуславливают их благоприятный профиль безопасности: предсказуемость действия, широкое «терапевтическое окно», короткий период полувыведения. Быстрое выведение ПОАК из организма позволяет более точно контролировать дозировку ЛС.

Риск развития геморрагических осложнений различен между представителями ПОАК. Так, наименьшую частоту развития крупных кровотечений продемонстрировал апиксабан, а применение ривароксана — наибольшую. Для снижения повышенного риска геморрагических осложнений при нарушении функции почек, а также в возрасте пациента более 80 лет рекомендуется снижение дозы ЛС. Таким пациентам следует назначать ПОАК в следующих дозировках: дабигатран — 110 мг 2 раза в сутки, ривароксан — 15 мг 1 раз в сутки, апиксабан — 2,5 мг 2 раза в сутки [7].

Как уже было отмечено выше, у дабигатрана существует специфический антидот, который можно использовать при передозировке, однако даже при отсутствии специфических блокаторов, исходы выраженных кровотечений, развивающихся на фоне приёма ПОАК, не тяжелее, чем у пациентов, получающих варфарин, действие которого можно блокировать ЛС витамина К.

Вопросы фармакогенетики ПОАК

На современном этапе развития клинической фармакологии всё большую популярность набирает т. н. «персонализированная медицина», т. е. учёт индивидуального профиля пациента при лечении различных заболеваний. Ведущее место в персонализации занимает учёт генетических особенностей — выявление полиморфизмов тех или иных генов, влияющих на фармадинамику и фармакокинетику ЛС и обуславливающих индивидуальный «ответ» на терапию [13].

В аспекте применения ПОАК доказанное значение имеют полиморфизмы генов *ABCB1*, *ABCG2*, *CES1* и *SULT1A1* [17, 19].

Ген *ABCB1* кодирует белок множественной лекарственной устойчивости 1 Р-гликопротеин (р-гр), способный влиять на распределение ЛС [16]. Являясь белком-переносчиком, р-гр участвует в транспорте субстратов из клетки во внеклеточное пространство, поэтому повышение активности может приводить к снижению эффективности ПОАК за счёт снижения всасывания ЛС через слизистую оболочку кишечника. Одновременное назначение ЛС, способных влиять на активность р-гр, может корректировать действие ПОАК. Это необходимо учитывать для проведения успешной антикоагулянтной терапии и снижения рисков развития осложнений. Так, верапамил, амиодарон, кетоконазол способны снижать активность транспортёра, что, в свою очередь, может снизить безопасность применения антикоагулянта и привести к развитию геморрагических осложнений. Напротив, активаторы р-гр способны уменьшать концентрацию ПОАК в плазме крови, что приведёт к снижению эффективности антикоагулянтной терапии: в результате возможно развитие тромбоэмболических осложнений.

Ген *CES1* отвечает за синтез карбокси-лэстеразы печени, которая гидролизует ксенобиотики и эндогенные субстраты, участвующие в метаболизме лекарств и ме-

ханизмах детоксикации. Активность данного фермента напрямую влияет на эффективность и безопасность действия ПОАК, т. к. он участвует в метаболизме данных препаратов [14].

Общегеномный анализ выявил три генотипа, которые влияли на уровень дабигатрана в плазме крови: два с участием гена *CES1* и один — с участием гена *ABCB1*. Полиморфизм rs8192935 из *CES1* был связан со снижением максимальной равновесной концентрации дабигатрана на 12%, что будет отражаться снижением риска осложнений от приёма данного ЛС. Полиморфизм rs2244613, который был обнаружен в 32,8% проанализированной популяции, приводил к снижению риска развития кровотечения на 27%. Это демонстрирует непосредственную связь между сниженной *C_{max}* и сниженным риском развития осложнений [21].

Было также обнаружено, что ген *ABCB1*, который кодирует р-гр и регулирует метаболизм дабигатрана, существует в большом количестве вариантов. Полиморфизм rs4148738 был связан с увеличением максимальной равновесной концентрации на 12%, что говорит о повышении риска развития гемморрагических осложнений [22].

Две трети дозы препарата метаболизируется ферментами CYP (цитохром P450); Изоферменты CYP3A4 (18%) и CYP2J2 (14%) являются наиболее значимыми, однако ни один из них не был изучен в отношении ПОАК. Ген *ABCG2* кодирует BCRP белок, который функционирует как переносчик ксенобиотиков и играет важную роль в множественной лекарственной устойчивости [18].

Сообщалось, что наиболее распространённая вариация этого гена, *Q141K*, снижает активность белка и, следовательно, уменьшает активный транспорт его субстратов. Этот полиморфизм ещё не был изучен в контексте ривароксабана, однако на экспериментальных моделях (на мышах) отсутствие р-гр

и BCRP было связано со значительно сниженной активностью ЛС. В отличие от случая с дабигатраном, общегеномный анализ большой когорты пациентов, принимавших ривароксабан, не проводился [15].

Апиксабан интенсивно всасывается из кишечника, является субстратом р-гр и BCRP и интенсивно связывается с белками плазмы. В основном метаболизируется CYP3A4 и CYP3A5 с образованием различных неактивных метаболитов, наиболее распространённым из которых является о-деметил-апиксабан. Также незначительную роль в метаболизме апиксабана играют CYP1A2 и CYP2J2. Ферменты цитохрома не были специально изучены с точки зрения фармакогенетики апиксабана, однако известно, что эти ферменты обладают значительным разнообразием и гетерогенностью.

SULT1A1 отвечает за конъюгирование о-деметил-апиксабана, основного метаболита апиксабана. Полиморфизм данного гена приводит к изменению активности биотрансформации препарата, соответственно, влияя на его безопасность [17]. Как субстрат, так и продукты этой реакции неактивны; однако снижение активности этой реакции потенциально может нарушить равновесие начальной цитохромной реакции и, таким образом, ограничить скорость распада апиксабана [20].

Таким образом, на данный момент, доказана и изучена роль полиморфизма генов *ABCB1*, *ABCG2*, *CES1* и *SULT1A1* в отношении влияния на профиль эффективности и безопасности апиксабана, дабигатрана и ривароксабана. Однако вопрос влияния полиморфизма генов, кодирующих ферменты семейства P450, остаётся открытым и требует дальнейшего изучения. При проведении молекулярно-биологического тестирования и выявлении прогностически неблагоприятных полиморфизмов ставится вопрос о выборе в пользу ЛС-аналогов (варфарин, низкомолекулярные гепарины (НМГ)).

Открытые вопросы эффективности и безопасности ПОАК

Несмотря на двадцатилетний опыт применения ПОАК в клинической практике и их широкую представленность в национальных клинических рекомендациях, решены далеко не все вопросы их эффективности и безопасности. В частности, остаётся неизученным вопрос влияния ПОАК на лиц различной расовой принадлежности, т. к. основные исследования фармакогенетики ПОАК проводились преимущественно на представителях европейского и азиатского происхождения. В связи с этим необходимо проведение дальнейших исследований на широкой группе пациентов, с учётом их этнической принадлежности для выявления особенностей действия ПОАК. В настоящее время отсутствие этих данных приводит к невозможности обобщения влияния клинических и фармакогенетических факторов на вариабельность действия ПОАК.

Кроме этого, не решён вопрос о возможности применения ПОАК у беременных и кормящих женщин. Имеется информация, что ривароксабан проходит через гематоплацентарный барьер, поэтому возможно

эмбриотоксическое или фетотоксическое действие препарата. Подтвердить или опровергнуть наличие этих явлений в настоящее время не представляется возможным, поэтому необходимы дальнейшие исследования в этом направлении.

Заключение

Учитывая, что полиморфизм генов играет важную роль для персонализации терапии, при возможности, пациентам может быть рекомендовано фармакогенетическое исследование. При этом важно понимать, что на сегодняшний день нет существенных сведений о процентном соотношении осложнений, связанных именно с полиморфизмом генов, соответственно, нет 100% достоверной информации об эффективности такой диагностики. Кроме того, следует учитывать, что проведение подобных молекулярно-генетических тестов не входит в систему ОМС и осуществляется далеко не во всех лабораториях. Исследование влияния генов на вариабельность действия ПОАК является относительно новым вектором в фармакологии, поэтому требуются дальнейшие исследования в данном направлении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Мелехов А.В., Гендлин Г.Е., Дадашова Э.Ф., Захарова И.И., Варенцов С.И. Новые оральные антикоагулянты — окончательное решение проблемы профилактики инсульта при фибрилляции предсердий? *Атмосфера. Новости кардиологии*. 2019;(3):20–29. [Melekhov A.V., Gendlin G.E., Dadashova E.F., Zaharova I.I., Varentsov S.I. Novye oral'nye antikoagulyanty — okonchatel'noe reshenie problemy profilaktiki insul'ta pri fibrillyatsii predserdiy? [New oral anticoagulants — the final solution to the problem of stroke prevention in atrial fibrillation?]. *Atmosfera. Novosti kardiologii* [Atmosphere. Cardiology News]. 2019;(3):20–29. (In Russian)].
2. Острый инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST электрокардиограммы. Клинические рекомендации. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(11):251–310. [Ostryy infarkt miokarda s pod'emom segmenta ST elektrokardiogrammy. Klinicheskie rekomendatsii [Acute myocardial infarction with a sub-ST segment of the electrocardiogram. Clinical Guidelines]. *Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal* [Russian Journal of Cardiology]. 2020;25(11):251–310. (In Russian)].
3. Пасечник И.Н. Использование новых оральных антикоагулянтов в хирургии. Ч. 1. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2016;(2):72–75. [Pasechnik I.N. Ispol'zovanie novykh oral'nykh antikoagulyantov v khirurgii. Ch. 1. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova* [Pirogov Russian Journal of Surgery]. 2016;(2):72–75. (In Russian)]. DOI: 10.17116/hirurgia2016272-75.
4. Российские клинические рекомендации. Ишемический инсульт и транзиторная ишемическая атака у взрослых. 2020. [Rossiyskie klinicheskie rekomendatsii. Ishemicheskaya ataka u vzroslykh [Russian clinical

- guidelines. Ischemic stroke and transient ischemic attack in adults]. 2020. (In Russian)].
5. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений (ВТЭО). *Флебология*. 2015;9(4):2–52. [Rossiyskie klinicheskie rekomendatsii po diagnostike, lecheniyu i profilaktike tromboembolicheskikh oslozhneniy (VTEO) [Russian clinical guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of venous thromboembolic complications]. *Phlebology*. 2015;9(4):2–52. (In Russian)].
 6. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике тромбоза глубоких вен. 2022. [Rossiyskie klinicheskie rekomendatsii po diagnostike, lecheniyu i profilaktike tromboza glubokikh ven [Russian clinical guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of deep vein thrombosis]. 2022. (In Russian)].
 7. Российские клинические рекомендации. Фибрилляция и трепетание предсердий у взрослых. 2020. [Rossiyskie klinicheskie rekomendatsii. Fibrillyatsiya i trepetanie predserdiy u vzroslykh [Russian clinical guidelines. Fibrillation and atrial flutter in adults]. 2020. (In Russian)].
 8. Российские клинические рекомендации. Флебит и тромбоз флебит поверхностных сосудов. *Флебология*. 2021;15(3):211–244. [Rossiyskie klinicheskie rekomendatsii. Flebit i tromboflebit poverkhnostnykh sosudov [Russian clinical guidelines. Phlebitis and thrombophlebitis of superficial vessels]. *Phlebology*. 2021;15(3):211–244. (In Russian)].
 9. Соколова А.А., Скрипка А.И. Прямые оральные антикоагулянты: первая «подушка безопасности». *Медицинский совет*. 2019;5:6–12. [Sokolova A.A., Skripka A.I. Pryamyie oral'nye antikoagulyanty: pervaya «podushka bezopasnosti» [Direct oral anticoagulants: the first “airbag”]. *Meditsinskiy sovet [Medical Council]*. 2019;5:6–12. (In Russian)]. DOI: 10.21518/2079-701X-2019-5-6-12.
 10. Трисветова Е.Л. Тромбоз легочной артерии и COVID-19: место антикоагулянтной терапии. *Кардиология в Беларуси*. 2020;12(3):370–381. [Trisvetova E.L. Tromboemboliya legochnoy arterii i COVID-19: mesto antikoagulyantnoy terapii [Pulmonary embolism and COVID-19: The place of anticoagulant therapy]. *Kardiologiya v Belarusi [Cardiology in Belarus]*. 2020;12(3):370–381. (In Russian)]. DOI: 10.34883/PI.2020.12.3.007
 11. Agnelli G., Buller H.R., Cohen A., Curto M., Gallus A.S., Johnson M., Porcari A., Raskob G.E., Weitz J.I.; AMPLIFY-EXT Investigators. Apixaban for extended treatment of venous thromboembolism. *N. Engl. J. Med.* 2013;368(8):699–708. DOI: 10.1056/NEJMoa1207541.
 12. Dabhi N., Chu L., Roach N., Chapman S. Current stroke clinical outcomes of direct anticoagulation therapy in patients with valvular atrial fibrillation: A scoping review. *medRxiv*. 2023. DOI: 10.1101/2023.02.25.23286281.
 13. Goetz L.H., Schork N.J. Personalized medicine: motivation, challenges, and progress. *Fertil. Steril.* 2018;109(6):952–963. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.05.006.
 14. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1066>.
 15. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1576>.
 16. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5243>.
 17. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6817>.
 18. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/9429>.
 19. Lähteenmäki J., Vuorinen A.L., Pajula J., Harno K., Lehto M., Niemi M., van Gils M. Pharmacogenetics of bleeding and thromboembolic events in direct oral anticoagulant users. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2021;110(3):768–776. DOI: 10.1002/cpt.2316.
 20. O'Connor C.T., Kiernan T.J., Yan B.P. The genetic basis of antiplatelet and anticoagulant therapy: A pharmacogenetic review of newer antiplatelets (clopidogrel, prasugrel and ticagrelor) and anticoagulants (dabigatran, rivaroxaban, apixaban and edoxaban). *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2017;13(7):725–739. DOI: 10.1080/17425255.2017.1338274.
 21. Paré G., Eriksson N., Lehr T., Connolly S., Eikelboom J., Ezekowitz M.D., Axelsson T., Haertter S., Oldgren J., Reilly P., Siegbahn A., Syvanen A.C., Wadelius C., Wadelius M., Zimdahl-Gelling H., Yusuf S., Wallentin L. Genetic determinants of dabigatran plasma levels and their relation to bleeding. *Circulation*. 2013;127(13):1404–1412. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.001233.
 22. Sychev D.A., Levanov A.N., Shelekhova T.V., Bochkov P.O., Denisenko N.P., Ryzhikova K.A., Mirzaev K.B., Grishina E.A., Gavrilov M.A., Ramenskaya G.V., Kozlov A.V., Bogoslovsky T. The impact of ABCB1 (rs1045642 and rs4148738) and CES1 (rs2244613) gene polymorphisms on dabigatran equilibrium peak concentration in patients after total knee arthroplasty. *Pharmacogenomics Pers. Med.* 2018;11:127–137. DOI: 10.2147/PGPM.S169277.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

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

Губин Евгений Викторович, ФГБОУ ВО
«Ростовский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Evgeny V. Gubin, Rostov State Medical University
of the Ministry of Health Care of Russia

Власенко Виктория Алексеевна, ФГБОУ ВО
«Ростовский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Viktoria A. Vlasenko, Rostov State Medical
University of the Ministry of Health Care of Russia

Рашкова Екатерина Вячеславовна,
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный ме-
дицинский университет» Минздрава России

Ekaterina V. Rashkova, Rostov State Medical
University of the Ministry of Health Care of Russia

Маллеев Ибрагим Махачович, ФГБОУ ВО
«Ростовский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Ibragim M. Malleev, Rostov State Medical
University of the Ministry of Health Care of Russia

Иванов Артём Валерьевич, ФГБОУ ВО
«Ростовский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Artem V. Ivanov, Rostov State Medical University
of the Ministry of Health Care of Russia

Герасюта Сергей Сергеевич, ФГБОУ ВО
«Ростовский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Sergey S. Gerasyuta, Rostov State Medical
University of the Ministry of Health Care of Russia

Булгурян Григорий Алексеевич, ФГБОУ ВО
«Ростовский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Grigory A. Bulguryan, Rostov State Medical
University of the Ministry of Health Care of Russia

Осипенко Яна Олеговна, ФГБОУ ВО
«Ростовский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Yana O. Osipenko, Rostov State Medical
University of the Ministry of Health Care of Russia

Денисенко Ольга Васильевна, ФГБОУ ВО
«Ростовский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Olga V. Denisenko, Rostov State Medical
University of the Ministry of Health Care of Russia

Саакян Дарья Артуровна, ФГБОУ ВО
«Ростовский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Darya A. Saakyan, Rostov State Medical
University of the Ministry of Health Care of Russia

Иванова Марина Хачатуровна, ФГБОУ ВО
«Ростовский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Marina H. Ivanova, Rostov State Medical
University of the Ministry of Health Care of Russia

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СУБСТАНЦИИ ЭПОФЕН ПРИ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

К.С. Остренко^{1,*}, А.Н. Овчарова¹, О.П. Егорова²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания
животных — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства —
ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»

249013, Российская Федерация, Калужская обл., Боровск, п. Институт

²ООО Научно-производственная компания «ИГЛЕССИЯ»
115516, Российская Федерация, Москва, ул. Бакинская, 18, кв. 10

Гипоксия — пониженное содержание кислорода в организме или отдельных органах и тканях. Гипоксия является самой частой причиной повреждения клетки, возникает при недостатке кислорода во вдыхаемом организмом воздухе, крови (гипоксемия) или тканях (при нарушениях тканевого дыхания). Если сила или длительность гипоксического воздействия превышают адаптационные возможности организма, органа или ткани, в них развиваются необратимые изменения. Устойчивость к гипоксии может быть повышена фармакологическими средствами, улучшающими доставку кислорода и/или эффективность его использования. Данное исследование было проведено с целью определения антигипоксического действия препарата Эпофен. Показано, что Эпофен оказывает выраженное антигипоксическое действие. Его эффективность варьировала от 24 до 89% при разных видах гипоксического воздействия и разных дозах.

Ключевые слова: Эпофен, гипоксическая нормобарическая гипоксия, гипоксическая гиперкапническая гипоксия, гипоксия нагрузки

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Остренко К.С., Овчарова А.Н., Егорова О.П. Изучение эффективности применения субстанции Эпофен при нормобарической гипоксии. *Биомедицина*. 2023;19(2):45–53. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-45-53>

Поступила 28.02.2023

Принята после доработки 15.04.2023

Опубликована 10.06.2023

STUDY INTO THE EFFICACY OF THE EPOPHEN SUBSTANCE IN NORMOBARIC HYPOXIA

Konstantin S. Ostrenko^{1,*}, Anastasia N. Ovcharova¹, Olga P. Yegorova²

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

²Scientific and Production Company "IGLESIA"
115516, Russian Federation, Moscow, Bakinskaya Str., 18, Sq. 10

Hypoxia is associated with reduced oxygen levels in the body, individual organs, or tissues. Hypoxia is the most common cause of cell damage, emerging under a lack of oxygen in the inhaled air, blood (hypoxemia), or tissues (violations of tissue respiration). When the strength or duration of hypoxic exposure

exceeds the adaptive capabilities of the body, an organ, or a tissue, irreversible changes may develop. Resistance to hypoxia can be enhanced by pharmacological agents that improve oxygen delivery and/or the effectiveness of its use. This study was conducted to determine the antihypoxic effect of the Epophen drug. Epophen was found to exhibit a pronounced antihypoxic effect, with the efficacy varying from 24 to 89% depending on the drug dose and hypoxia type.

Keywords: Epophen, hypoxic normobaric hypoxia, hypoxic hypercapnic hypoxia, load hypoxia

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

For citation: Ostrenko K.S., Ovcharova A.N., Yegorova O.P. Study into the Efficacy of the Epophen Substance in Normobaric Hypoxia. *Journal Biomed.* 2023;19(2):45–53. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-45-53>

Submitted 28.02.2023

Revised 15.04.2023

Published 10.06.2023

Введение

Нормобарическая гипоксия развивается вследствие уменьшения парциального давления кислорода во вдыхаемом воздухе в условиях нормального атмосферного давления. Подобное состояние может наблюдаться при длительном нахождении в плохо проветриваемых пространствах, например, при работах в рудниках. Атмосферное давление в этом случае нормальное, однако изменяется газовый состав вдыхаемого воздуха: парциальное давление кислорода снижается, а углекислого газа — повышается [3, 4]. Таким образом, для нормобарической гипоксии характерны следующие изменения газового состава и pH крови: 1) артериальная гипоксемия ($\text{pO}_2\downarrow$), 2) гиперкапния ($\text{pCO}_2\uparrow$), 3) газовый ацидоз ($\text{pH}\downarrow$). Возникает расширение сосудов головного мозга и миокарда и снижение сродства гемоглобина к кислороду, в лёгких уменьшается диффузия кислорода через альвеолокапиллярную мембрану, снижается парциальное напряжение кислорода (pO_2) в артериальной крови, т. е. развивается гипоксемия [1]. Соответственно, уменьшается обеспечение тканей кислородом, в митохондриях угнетается окислительное фосфорилирование и развивается энергодефицит [6, 7]. Состояние гипоксии с гиперкапнией может возникнуть при некоторых заболеваниях сердечно-сосудистой,

дыхательной, мочевыделительной систем и крови.

Выполнение практически всех видов физических упражнений связано с возникновением гипоксии — как в работающих мышцах и мозге, так и в других органах. Резко выраженная гипоксия может быть причиной нарушения энергетического обмена, проницаемости мембран, а также может приводить к другим изменениям в организме [2]. При росте интенсивности нагрузки энергопродуцирующая система окислительного фосфорилирования не справляется с возросшей потребностью организма в энергии (стрессовая активация прироста ЧСС без усиления масс-переноса кислорода), накапливающиеся восстановленные эквиваленты (НАДН, НАДФН, ФАДН) повышают активность ферментов анаэробного гликолиза — резервного механизма энергопродукции. При этом усиливается как образование пирувата, так и его превращение в лактат. В организме начинают появляться метаболические последствия гипоксии нагрузки — лактацидоз, нарушение функции гистогематических барьеров, активация перекисных и свободнорадикальных процессов, активация глюконеогенеза, насыщение эритроцитов продуктами протеолиза [5, 6].

Таким образом, для оценки гипоксии нагрузки в процессе её биомоделирования

в качестве маркера возникшей гипоксии рекомендована избыточная лактацидемия.

При любой форме гипоксии в митохондриях понижается скорость окислительных процессов и окислительное фосфорилирование. В результате угнетается синтез АТФ, увеличивается содержание АДФ и АМФ, снижается соотношение АТФ/АДФ+АМФ, активируется фосфофруктокиназа (ключевой фермент анаэробного гликолиза). Активацию анаэробного гликолиза в этом случае следует рассматривать как адаптивный механизм, несмотря на то, что его эффективность ниже (из одной молекулы глюкозы образуется две молекулы АТФ), чем эффективность кислородного расщепления глюкозы (из одной молекулы глюкозы образуется 36 молекул АТФ). Накопившаяся при анаэробном гликолизе молочная кислота вызывает внутриклеточный ацидоз, инактивацию фосфофруктокиназы и подавление анаэробного гликолиза [9]. Возникает тяжёлый дефицит АТФ, ещё более усугубляясь процессы повреждения клеток, вплоть до гибели клеток.

Механизмы развития гипоксического поражения. Вследствие нарастающей недостаточности АТФ в клетке подавляется деятельность наиболее активного потребителя энергии в клетке — $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-АТФ}$ -азы — и нарушается работа $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ионного насоса. В результате увеличивается концентрация внеклеточного K^+ , а в цитозоле накапливаются Na^+ , Ca^{2+} и вода. Вследствие потери градиента $\text{K}^+\text{-Na}^+$ снижается мембранный потенциал и нарушаются процессы электрогенеза. Развивается «кальциевый стресс» вплоть до «кальциевой смерти».

Гипоксия ведёт к модификации функций биологических мембран, затрагивающей как липидный бислой, так и мембранные ферменты. Повреждаются или модифицируются главные функции мембран: барьерная, рецепторная, каталитическая. Причинами этого явления служат энергодефицит и активация на его фоне фосфолиполиза и пе-

рекисного окисления липидов. Замыкается «порочный круг»: недостаток кислорода нарушает энергетический обмен и стимулирует свободно-радикальное окисление, а активация последнего, повреждая мембраны митохондрий и лизосом, усугубляет энергодефицит. После кислородного голодания в ранее ишемизированных участках тканей кровотока неизбежно восстанавливается. Реперфузия обуславливает многократное повышение парциального напряжения кислорода, что стимулирует дальнейшую активацию свободно-радикальных процессов (синдром «реперфузионного шока») [13].

Для повышения резистентности человека к гипоксии уже на протяжении нескольких десятилетий широко применяются фармакологические средства, оказывающие стимулирующее или модулирующее действие на многочисленные компенсаторно-приспособительные реакции организма.

Материалы и методы

Антигипоксическое действие препарата Эпофен® оценивали в соответствии с методическими рекомендациями «Биомедицинское (доклиническое) изучение антигипоксической активности лекарственных средств» под ред. Н.Н. Каркищенко. В экспериментах были использованы самцы мышей F1 CBA/лас × C57BL/6 массой 23 ± 2 г. Гибриды первого поколения (F1) генетически и фенотипически однородны, ответ организма на экспериментальное воздействие однотипный и стабильный, воспроизводимость результатов исследований высокая [10–12].

Источник получения животных — филиал «Андреевка» ФГБУН ИЦБМТ ФМБА России.

В экспериментальной фармакологии эталонным (референсным) препаратом сравнения антигипоксической активности является Пирацетам. Пирацетам рекомендован в качестве антигипоксанта с высокой активностью в отношении гипоксической

гипоксии. Препарат рекомендуется применять в дозе 120 мг/кг.

Гипоксическую гиперкапническую гипоксию моделировали следующим образом: мышей сходной массы помещали по одной в герметически закрывающиеся банки объёмом 300 см³. После посадки животного в банку и закрытия крышки отмечали время начала опыта. Регистрировали время гибели животных по прекращению дыхания. Используемая доза Эпофена — 28 мг/кг. Достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента.

Острую гипоксическую нормобарическую гипоксию моделировали с помощью помещения мышей в гипоксическую камеру, на дне которой под решёткой размещали 30%-ный р-р КОН для поглощения выделяемого животными углекислого газа. После помещения животных в камеру её герметизировали. Через трубку в крышке осуществлялась подача азота, давление в камере контролировали при помощи манометра, содержание кислорода измеряли кислородным датчиком. Регистрировали время гибели животных (по прекращению дыхания) и уровень кислорода, при котором наступала гибель животных.

Моделирование гипоксии нагрузки осуществляли в соответствии со стандартной методикой плавания животных с грузом 10% от массы тела в воде температурой 25 °С в сосуде диаметром 15 см и глубиной 40 см, в этих условиях мышь не может ни выбраться из сосуда, ни найти в нём опору. Опытные животные получали Эпофен в следующих дозировках: 1-я группа — 12 мг/кг; 2-я группа — 28 мг/кг; 3-я группа — 40 мг/кг; 4-я группа — 60 мг/кг. В качестве параметров эффективности регистрировали длительность плавания, до полного погружения мышей в воду с выделением пузырьков воздуха. Не дожидаясь гибели животного, его извлекали из сосуда с водой, из ретроорбитального синуса с помощью стерильной пастеровской пипетки

отбирали кровь в пробирки типа эппендорф с ЭДТА и без него. Далее животных помещали в эксикатор и выводили из опыта с помощью смеси эфира с хлороформом с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации. Морфологические показатели крови мышей определяли на автоматическом гематологическом анализаторе Mindray BC-2800 Vet. Определяли фагоцитарное число и фагоцитарный индекс прямым морфологическим методом, в качестве тест-культуры использовали штамм *E. coli* 113-3. Сыворотку отделяли при 10 000 об./мин. Содержание лактата в сыворотке крови крыс (ммоль/л) и липидный спектр определяли с использованием набора реагентов компании «Ольвекс диагностика» (Россия). Измеряли оптическую плотность с помощью биохимического анализатора Biochem SA («High technology», США), при длине волны 500 нм.

Результаты и их обсуждение

Результаты антигипоксического действия препарата Эпофен и референсного препарата Пирацетам при моделировании острой гипоксической гиперкапнической гипоксии на мышах представлены в табл. 1. Отмечено достоверное увеличение времени жизни мышей в группах, получавших Эпофен, на 53,7%, получавших Пирацетам — на 40,6% относительно группы контроля. Время жизни мышей, получавших Эпофен, на 13,1% выше, чем у мышей, получавших Пирацетам.

Использование гипоксикаторов и газовых смесей с пониженным содержанием O₂ в опытах на животных позволяет воспроизводить состояние т. н. «чистой» гипоксии, при котором в условиях нарастающего дефицита или стабильно низкого содержания O₂ в окружающей среде не изменяется барометрическое давление и не формируется гиперкапния.

Таблица 1. Продолжительность жизни мышей при моделировании острой гиперкапнической гипоксии ($M \pm m$, $n=10$)
Table 1. Life expectancy of mice in the simulation of acute hypercapnic hypoxia ($M \pm m$, $n=10$)

Группы мышей	Контроль	Эпофен, 28 мг/кг	Пирацетам, 120 мг/кг
Продолжительность жизни, мин	40,9 $\pm$ 1,2	62,9 $\pm$ 1,4'	57,5 $\pm$ 1,7'
% относительно контроля	100	53,7	40,6

Примечание: (здесь и далее) * — $p < 0,01$ по t -критерию в сравнении с контролем.

Note: (hereafter) * — $p < 0.01$ according to the t -criterion in comparison with the control.

Таблица 2. Содержание кислорода во вдыхаемом воздухе, приводящее к гибели ($M \pm m$, $n=10$)
Table 2. Oxygen content in the inhaled air leading to death ($M \pm m$, $n=10$)

Группы животных	Доза, мг/кг	Содержание кислорода во вдыхаемом воздухе, при котором наступала гибель животных, %
Контроль	—	4,8 $\pm$ 0,2
Эпофен	28	3,6 $\pm$ 0,1'
Пирацетам	120	3,4 $\pm$ 0,2'

В данном исследовании на модели острой нормобарической гипоксии было установлено, что в контрольной группе животные погибали при вдыхании газовой смеси, содержащей 4,2% кислорода (табл. 2). В группе, которой вводили Эпофен, антигипоксическое действие было обнаружено практически на уровне препарата сравнения — Пирацетама, достоверных различий между опытными группами выявлено не было. Эпофен значимо повышал устойчивость мышей к низкому содержанию кислорода до 3,6% во вдыхаемом воздухе. Животные погибали при концентрации кислорода во вдыхаемом воздухе в среднем на 25% ниже, чем в контроле. В группе с контрольным препаратом Пирацетам разница составила 29%.

При изучении гипоксии нагрузки результаты настоящего исследования показали статистически значимые отличия динамики работоспособности у мышей опытных групп от изменения аналогичного показателя у животных контрольной группы ($p < 0,05$). Также отмечали дозозависимый эффект. В тесте плавания с грузом животные, попадая в воду, сначала пытались выбраться, но затем зависали в воде в характерной позе иммобилизации, оставаясь полностью неподвижными или совершая незначительные движения, необходимые для поддержания морды на поверхности

воды. У контрольных животных ($n=10$) активность сменяется наступлением стадии иммобилизации и быстрым погружением.

Применение как Эпофена, так и эталонного препарата Пирацетама позволяло продлить стадию активности, снизив стадию полного погружения. Увеличение работоспособности и выносливости на 71% во второй группе, на 82% — в третьей группе, на 88% — в четвертой группе и на 89% — в группе с Пирацетамом свидетельствует о повышении энергообеспеченности мышечной ткани и о повышении сопряженности окислительного фосфорилирования (табл. 3).

В условиях недостатка кислорода образование активных форм кислорода (АФК) возрастает как в цитозоле, так и в митохондриях, особенно интенсивно — при последующей реоксигенации. Основываясь на механизме антигипоксического действия Эпофена, заключающегося в шунтировании транспорта электронов 1-го и 2-го комплексов дыхательной цепи за счёт высокой электронобменной ёмкости, и повышении сопряженности окислительного фосфорилирования, мышцы в опытных группах дольше находились в активном состоянии. Полигидрофениленовые структуры, к которым относится Эпофен, способны обеспечивать проявление выраженных антиоксидантных свойств, связывать большое число

Таблица 3. Длительность плавания мышей в тесте Порсолта ($M \pm m$, $n=10$)

Table 3. Swimming duration of mice in a Porsolt swim test ($M \pm m$, $n=10$).

Показатели (сек)	Группы					
	контроль	1	2	3	4	5
Длительность плавания	159,0 $\pm$ 20,18	184,37 $\pm$ 26,58	273,17 $\pm$ 20,22'	290,06 $\pm$ 25,75'	300,43 $\pm$ 10,89'	301,97 $\pm$ 14,54'

Таблица 4. Биохимические показатели в крови мышей на фоне вынужденной беспомощности (тест Порсолта) ($M \pm m$, $n=10$)

Table 4. Biochemical parameters in the blood of mice against the background of forced helplessness (Porsolt test) ($M \pm m$, $n=10$)

Показатели, ммоль/л	Группы						
	Интакт	Контроль	1	2	3	4	5
Лактат	3,23 $\pm$ 0,15	3,60 $\pm$ 0,25	4,06 $\pm$ 0,29	5,33 $\pm$ 0,26'	5,47 $\pm$ 0,28'	5,61 $\pm$ 0,26'	5,64 $\pm$ 0,28'
Глюкоза	4,40 $\pm$ 0,10	6,53 $\pm$ 0,31	6,54 $\pm$ 0,37	6,66 $\pm$ 0,27	6,64 $\pm$ 0,37	6,67 $\pm$ 0,27	6,66 $\pm$ 0,23
Отношение «глюкоза/лактат»	1,36	1,81	1,61	1,25	1,21	1,19	1,18

свободных радикалов, нейтрализовывать окислители и продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ). Снижение развития окислительного стресса является одной из основных причин, повышающих выживаемость мышей опытных групп.

На фоне интенсивной физической активности в организме мышей резко увеличивалась скорость анаэробного гликолиза, за счёт которого в крови возрастала концентрация глюкозы ($p<0,05$) и лактата, как основного и резервного источника энергетической обеспеченности клеток. Повышение концентрации молочной кислоты и снижение величины глюкозо-лактатного соотношения ($p<0,05$) на 35% в группе с Пирацетамом и, соответственно, на 30, 34 и 35% в группах с Эпофеном свидетельствует о действии лактата как подвижного метаболита, распределяемого через системный кровоток к различным органам, тканям и клеткам для окисления или переработки, что позволяет поддерживать доставку энергии в виде АТФ. В конечном счёте, лактат можно рассматривать как сигнальную молекулу, участвующую в регуляции окислительно-восстановительного состояния клетки и окислительной защите, что коррелируется с механизмом действия Эпофена и является показателем эффективного антигипоксического и антиоксидантно-

го действия, в прямо пропорциональной зависимости от дозировки. Совокупность полученных данных свидетельствует о неспособности аэробных систем энергообеспечения обеспечивать процессы адаптации организма мышей в контрольной группе, в отличие от групп, где применялся Эпофен и эталонный препарат Пирацетам (табл. 4).

В крови всех животных повышалась концентрация глюкозы. Если исходить из того, что глюкоза крови отражает функциональное и метаболическое единство гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, клеток организма, в первую очередь — печени и мышц (гликоген), почек (глюконеогенез) и периферических эндокринных желёз (поджелудочная железа), то после воздействия физической нагрузки и стресса в организме мышей развиваются сдвиги, характерные для стадии мобилизации и сверхмобилизации легкодоступных адаптационных резервов в ходе биохимической адаптации. При этом уровень глюкозы обеспечивался за счёт активации процессов глюконеогенеза, фосфоролиза гликогена печени и ограничения скорости внутриклеточного окислительного распада глюкозы. Катаболизм углеводов протекал в условиях гипоксии и снижения интенсивности глюконеогенеза, что приводило к повышению в крови лактата. Наблюдаемые изменения были универ-

сальны для действия на организм животных различных стресс-факторов.

Кроме того, уменьшение доступности молочной кислоты вызывало состояние низкого кровотока с выраженной гипотензией и раннюю летальность, что также соответствует данным, полученным в нашем исследовании.

Воздействие физической нагрузки и стресса является пусковым механизмом изменения липидного обмена, проявляющегося в мобилизации триглицеридов из жировых депо, что сопровождается повышением концентрации неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) и холестерина (ОХ). Известно, что холестерин и липопротеиды низкой плотности обладают атерогенным действием, поэтому предупреждение увеличения их концентрации в плазме является важной медицинской проблемой. Основная функция триглицеридов — энергетическая, поэтому исследование данного показателя конкретизирует участие липидного обмена в энергетическом обеспечении мышечной деятельности. Большие запасы триглицеридов, находящиеся в жировой ткани, активируются с относительно медленной скоростью. При этом физические нагрузки стимулируют выработку фермента — гормонально чувствительной липазы, которая активирует липолиз. Основным фактор, отвечающий за стимулирование липолиза триглицеридов жировой ткани под воздействием физических нагрузок, — увеличе-

ние концентрации в крови адреналина, активизирующего β -рецепторы в адипоцитах. Острая физическая нагрузка субмаксимальной мощности является анаэробной и сопровождается острой гипоксией метаболизма липидов, что запускает процессы ПОЛ и сопровождается нарушением обмена липидов, особенно при возникновении дислипидотеинемии атерогенного характера.

При исследовании гематологических показателей в опыте плавания с грузом было выявлено, что у мышей, получавших Эпофен, уменьшался уровень ТГ в сыворотке крови на 25,5% по сравнению с контрольными животными. Эксперименты, выполненные в условиях запредельных нагрузок и стресса, показали, что концентрация ОХ и ТГ в крови увеличивается на 58, 53, 25 и 18% соответственно, в отличие от таковой у интактных животных, что свидетельствует о развитии гиперлипидемии. В ходе проведенных исследований было установлено, что в группах с Эпофеном и Пирацетамом уровень триглицеридов был ниже на 21, 24 и 25,5% соответственно относительно животных группы контроля, принимавшей участие с тесте (табл. 5).

У мышей, которые получали Эпофен и Пирацетам, нарушения липидного профиля крови становились менее выраженными: содержание общего ХС не превышало 20% от уровня интактных животных и было меньше на 41% по сравнению с контрольными животными с гиперлипидемией. Эти

Таблица 5. Изменение показателей липидного обмена у мышей в тесте вынужденной беспомощности (Порсолт) ($M \pm m$, $n=10$)

Table 5. Changes in lipid metabolism in mice in the forced helplessness test (Porsolt) ($M \pm m$, $n=10$)

Показатели, ммоль/л	Интакт	Контроль	Группы				
			1	2	3	4	5
ОХ	2,54 $\pm$ 0,05	4,02 $\pm$ 0,06	3,90 $\pm$ 0,11	3,18 $\pm$ 0,08*	3,06 $\pm$ 0,03*	3,00 $\pm$ 0,08*	2,99 $\pm$ 0,12*
Триглицериды	1,33 $\pm$ 0,04	2,11 $\pm$ 0,07	2,04 $\pm$ 0,06	1,66 $\pm$ 0,09*	1,60 $\pm$ 0,08*	1,57 $\pm$ 0,07*	1,57 $\pm$ 0,07*
ХЛПВП	0,84 $\pm$ 0,07	1,02 $\pm$ 0,07	1,18 $\pm$ 0,07	1,28 $\pm$ 0,03*	1,33 $\pm$ 0,06*	1,37 $\pm$ 0,08*	1,37 $\pm$ 0,05*
ХЛПНП	1,03 $\pm$ 0,11	1,94 $\pm$ 0,09	1,71 $\pm$ 0,14	1,07 $\pm$ 0,05*	1,92 $\pm$ 0,09*	0,84 $\pm$ 0,08*	0,83 $\pm$ 0,11*
ХЛПОНП	0,61 $\pm$ 0,02	0,96 $\pm$ 0,03	0,93 $\pm$ 0,03	0,76 $\pm$ 0,04*	0,73 $\pm$ 0,04*	0,71 $\pm$ 0,03*	0,72 $\pm$ 0,03*
Индекс атерогенности	2,01	2,95	2,32	1,49	1,29	1,19	1,18

данные указывают на гипополидемическое свойство изучаемых веществ.

Распределение фракций липопротеидов происходило неоднородно. В опытных группах происходило увеличение фракций липидов высокой плотности на 25, 30 и 34% по сравнению с контролем. В контрольной группе наблюдалась обратная тенденция: снижение липопротеидов низкой плотности и повышение липопротеидов низкой и очень низкой плотности. Подтверждением значительного улучшения липидного профиля крови вследствие

коррекции его Эпофеном является снижение в 2,5 раза коэффициента атерогенности КА в той же степени, что и под влиянием Пирацетама. Сравнительная оценка терапевтического эффекта тестируемого антигипоксанта и эталонного препарата Пирацетам на изменение липидных показателей в сыворотке крови модели вынужденной беспомощности (Порсолта) у мышей не выявила между ними существенных различий (группы 2–5), что указывает на наличие выраженного гипополидемического свойства у обоих препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Аллаяров Р.К., Степанова Н.Н., Моргунов Г.И., Камзолова С.В. Перспективы разработки новых препаратов на основе биосинтетических органических кислот для профилактики и лечения гипоксии в условиях длительных космических экспедиций. *Бизнес в законе. Экономико-юридический журнал*. 2016;6:168–171. [Allayarov R.K., Stepanova N.N., Morgunov G.I., Kamzolova S.V. Perspektivy razrabotki novykh preparatov na osnove biosinteticheskikh organicheskikh kislot dlya profilaktiki i lecheniya gipoksii v usloviyakh dlitel'nykh kosmicheskikh ekspeditsiy [Prospects for the development of new drugs based on biosynthetic organic acids for the prevention and treatment of hypoxia in long-term space missions]. *Biznes v zakone. Ekonomiko-yuridicheskiy zhurnal* [Business in law. Economic and legal journal]. 2016;6:168–171. (In Russian)].
2. Евсеева М.А., Евсеев А.В., Правдивцев В.А., Шабанов П.Д. Механизмы развития острой гипоксии и пути её фармакологической коррекции. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2008;6(1):3–25. [Evseeva M.A., Evseev A.V., Pravdivtsev V.A., Shabanov P.D. Mekhanizmy razvitiya ostroy gipoksii i puti ee farmakologicheskoy korrektsii [Mechanisms of development of acute hypoxia and ways of its pharmacological correction]. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii* [Reviews of clinical pharmacology and drug therapy]. 2008;6(1):3–25. (In Russian)].
3. Замощина Т.А., Гостюхина А.А., Зайцев К.В., Светлик М.В., Жукова О.Б. Влияние мексидола на физическую работоспособность и уровень лактата в крови крыс в условиях световых десинхронозов. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2018;118(11):82–86. [Zamoshchina T.A., Gostyuhina A.A., Zajcev K.V., Svetlik M.V., Zhukova O.B. Vliyanie meksidola na fizicheskuyu rabotosposobnost' i uroven' laktata v krovi krys v usloviyakh svetovykh desinkhronozov [Influence of mexidol on physical performance and lactate level in the blood of rats under conditions of light desynchronization]. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova* [S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry]. 2018;118(11):82–86. (In Russian)]. DOI: 10.17116/jnevro20181181182.
4. Каркищенко В.Н., Каркищенко Н.Н., Шустов Е.Б., Берзин И.А., Фокин Ю.В., Алимкина О.В. Особенности интерпретации показателей работоспособности лабораторных животных по плавательным тестам с нагрузкой. *Биомедицина*. 2016;4:34–46. [Karkischenko V.N., Karkischenko N.N., Shustov E.B., Berzin I.A., Fokin Yu.V., Alimkina O.V. Osobennosti interpretatsii pokazateley rabotosposobnosti laboratornykh zhivotnykh po plavatel'nykh testam s nagruzkoy [Peculiarities of interpretation of performance indicators of laboratory animals in swimming tests with load]. *Biomeditsina* [Journal Biomed]. 2016;4:34–46. (In Russian)].
5. *Клиническая лабораторная диагностика. Т. 2. Национальное руководство*. Под ред. В.В. Долгова. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012. [Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. T. 2. Natsional'noe rukovodstvo [Clinical laboratory diagnostics. Vol. 2. National guidelines]. Ed. by V.V. Dolgov. Moscow: GEOTAR-Media Publ.; 2012. (In Russian)].
6. Малкова Я.Г., Кальченко Г.П. Использование различных моделей гипоксии в экспериментальной фармакологии. *Молодой учёный*. 2010;3(14):318–319. [Malkova Ya.G., Kal'chenko G.P. Ispol'zovanie razlichnykh modeley gipoksii v eksperimental'noy farmakologii [The use of various models of hypoxia in experimental pharmacology]. *Molodoy uchenyy* [Young scientist]. 2010;3(14):318–319. (In Russian)].
7. Медик В.А., Токмачев М.С., Фишман Б.Б. *Статистика в медицине и биологии*. М.: Медицина, 2001. [Medik V.A., Tokmachev M.S., Fishman B.B. v krovi krys v usloviyakh svetovykh desinkhronozov [Influence of mexidol on physical performance and lactate level in the blood of rats under conditions of light desynchronization]. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova* [S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry]. 2018;118(11):82–86. (In Russian)]. DOI: 10.17116/jnevro20181181182.

- Statistika v meditsine i biologii* [Statistics in medicine and biology]. Moscow: Meditsina Publ., 2001. (In Russian)].
8. Нагибович О.А., Уховский Д.М., Жекалов А.Н., Ткачук Н.А., Аржавкина Л.Г., Богданова Е.Г., Мурзина Е.В., Беликова Т.М. Механизмы гипоксии в арктической зоне Российской Федерации. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2016;2(54):202–205. [Nagibovich O.A., Uhovskij D.M., Zhekalov A.N., Tkachuk N.A., Arzhavkina L.G., Bogdanova E.G., Murzina E.V., Belikova T.M. Mekhanizmy gipoksii v arkticheskoy zone Rossiyskoy Federatsii [Mechanisms of hypoxia in the Arctic zone of the Russian Federation]. *Vestnik Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii* [Bulletin of the Russian Military Medical Academy]. 2016;2(54):202–205. (In Russian)].
9. Приказ Минздравсоцразвития России № 750н от 26.08.2010 «Об утверждении правил проведения экспертизы лекарственных средств для медицинского применения и формы заключения комиссии экспертов». [Prikaz Minzdravsocrazvitiya Rossii № 750n ot 26.08.2010. «Ob utverzhdenii pravil provedeniya ekspertizy lekarstvennykh sredstv dlya medicinskogo primeneniya i formu zaklyucheniya komissii ekspertov»]. [Prikaz Minzdravsocrazvitiya Rossii № 750n ot 26.08.2010. «Ob utverzhdenii pravil provedeniya ekspertizy lekarstvennykh sredstv dlya medicinskogo primeneniya i formu zaklyucheniya komissii ekspertov»] [Order of the Ministry of Health and Social Development of Russia No. 750n dated 26.08.2010 “On approval of the rules for the examination of medicines for medical use and the form of the conclusion of the commission of experts”]. (In Russian)].
10. Приказ Минздравсоцразвития России № 708н от 23.08.2010 «Об утверждении правил лабораторной практики». [Prikaz Minzdravsocrazvitiya Rossii № 708n ot 23.08.2010 «Ob utverzhdenii pravil laboratornoj praktiki»] [Order of the Ministry of Health and Social Development of Russia No. 708n dated 23.08.2010 “On approval of the rules of laboratory practice”]. (In Russian)].
11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под общ. ред. чл.-корр. РАМН, проф. Р.У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. [Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv [Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. Ed. by R.U. Khabriev. Moscow: Meditsina Publ., 2005. (In Russian)].
12. Рябов Г.А. Гипоксия критических состояний. М.: Медицина, 1998:89–96. [Ryabov G.A. Gipoksiya kriticheskikh sostoyaniy [Hypoxia of critical conditions]. Moscow: Meditsina Publ.; 1998:89–96. (In Russian)].
13. Шустов Е.Б., Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Капанадзе Г.Д., Станкова Н.В., Ревякин А.О., Матвеев Е.Л., Ким А.Е., Шуленин Н.С. Гипоксия физической нагрузки: изучение у человека и лабораторных животных. *Биомедицина*. 2014;4:4–16. [Shustov E.B., Karkischenko N.N., Karkischenko V.N., Kapanadze G.D., Stankova N.V., Revyakin A.O., Matveyenko E.L., Kim A.E., Shulenin N.S. Gipoksiya fizicheskoy nagruzki: izuchenie u cheloveka i laboratornykh zhivotnykh [Exercise hypoxia: A study in humans and laboratory animals]. *Biomeditsina* [Journal Biomed]. 2014;4:4–16. (In Russian)].

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 исследовательский центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»;
e-mail: Ostrenkoks@gmail.com

Овчарова Анастасия Никитовна, к.б.н., Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»;
e-mail: a.n.ovcharova@mail.ru

Егорова Ольга Павловна, ООО Научно-производственная компания «ИГЛЕССИЯ»

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

Anastasia N. Ovcharova, 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: a.n.ovcharova@mail.ru

Olga P. Yegorova, Scientific and Production Company “IGLESIA”

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

РЕАКЦИЯ CD68-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ТИМУСА У КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ СЕЛЕНА И КАНЦЕРОГЕНА

Н.В. Бубнова

ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова»
428015, Российская Федерация, Чебоксары, Московский пр., 15

Макрофаги являются ключевыми клетками тимуса, которые принимают участие в антигеннезависимой дифференцировке Т-лимфоцитов и их дальнейшей селекции. По уровню макрофагов можно судить об изменении функций исследуемого органа. Селен является незаменимым микроэлементом, который входит в состав множества белков и ферментов, обеспечивающих цитопротективное, антимутagenное и антиканцерогенное действие. Также он играет значительную роль в функционировании иммунной системы, увеличивая активность естественных киллеров, продукцию интерлейкинов и стимулируя фагоцитоз. Главная цель данного исследования — изучение реакции макрофагов тимуса на фоне приёма селена и введения химического канцерогена. В ходе эксперимента выявлено увеличение уровня CD68-положительных клеток у всех опытных животных, получавших селен, канцероген и при сочетанном влиянии этих факторов, что может быть связано с иммуностимулирующим действием селена.

Ключевые слова: селен, уретан, CD68, макрофаги, тимус

Конфликт интересов: автор заявил об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Бубнова Н.В. Реакция CD68-положительных клеток тимуса у крыс при введении селена и канцерогена. *Биомедицина*. 2023;19(2):54–60. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-54-60>

Поступила 15.03.2023

Принята после доработки 11.05.2023

Опубликована 10.06.2023

RESPONSE OF CD68-POSITIVE THYMIC CELLS IN RATS TO SELENIUM AND CARCINOGEN ADMINISTRATION

Natalia V. Bubnova

I.N. Ulyanov Chuvash State University
428015, Russian Federation, Cheboksary, Moskovsky Ave., 15

Macrophages are the key thymic cells that take part in the antigen-independent differentiation of T-lymphocytes and their further selection. The level of macrophages indicates changes in the functions of the organ under study. As an essential trace element, selenium is part of a variety of proteins and enzymes, which perform cytoprotective, antimutagenic, and anticarcinogenic action. Selenium also plays a significant role in the functioning of the immune system, increasing the activity of natural killers, production of interleukins, and stimulation of phagocytosis. This study was aimed at investigating the response of thymic macrophages to the administration of selenium and a chemical carcinogen. During the experiment, an increase in the level of CD68-positive cells was revealed in all experimental animals receiving selenium and a carcinogen, as well as under their combined action. The observed effects were assumed to be related to the immune-stimulating effect of selenium.

Keywords: selenium, urethane, CD68, macrophages, thymus

Conflict of interest: the author declares no conflict of interest.

For citation: Bubnova N.V. Response of CD68-Positive Thymic Cells in Rats to Selenium and Carcinogen Administration. *Journal Biomed.* 2023;19(2):54–60. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-54-60>

Submitted 15.03.2023

Revised 11.05.2023

Published 10.06.2023

Введение

Макрофаги играют одну из главных ролей в регуляции работы иммунной системы, относятся к клеткам врождённого иммунитета и выполняют в организме большое количество функций, что возможно в связи с их гетерогенностью и пластичностью [10]. Это клетки гемопоэтического происхождения, которые определяются практически во всех органах и тканях организма, — клетки Купфера в печени, альвеолярные макрофаги в лёгких, остеокласты в костной ткани и т. д., и составляют 10–15% от общего количества клеток. Несмотря на морфологическое и функциональное разнообразие макрофагов, выполняемые ими функции универсальны [20]. Они участвуют в формировании архитектуры тканей, их ремоделировании и репарации, поддержании тканевого гомеостаза, фагоцитозе апоптотических клеток, иммунном ответе на поступающие в организм чужеродные агенты [11]. Благодаря широкому спектру функций макрофагов их можно рассматривать одним из главных элементов, определяющих роль остальных клеток иммунной системы. Существует понятие о системе мононуклеарных фагоцитов, к которым относятся моноциты, тканевые макрофаги и клетки-предшественники [13].

Уровень макрофагов может изменяться путём дифференцировки циркулирующих моноцитов при участии макрофагального колониестимулирующего (M-CSF) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) [9]. При участии M-CSF моноциты дифференцируются в макрофаги с противовоспалительным фенотипом про-M2, а GM-

CSF приводит к образованию макрофагов с провоспалительным фенотипом про-M1 [7]. Про-M1 и про-M2 становятся макрофагами 1-го и 2-го типа при воздействии многообразных факторов [19]. Макрофаги 1-го типа секретируют интерлейкин-1 β , интерлейкин-6, фактор некроза опухоли, участвуют в развитии Th1-опосредованных иммунных реакций, обеспечивающих устойчивость к внутриклеточным патогенам и опухолям. Макрофаги 2-го типа экспрессируют маннозные и галактозные рецепторы, принимают участие в развитии Th2-опосредованных иммунных реакций, в ограничении воспаления, иммунорегуляции, ремоделировании тканей и ангиогенезе [17].

Селен относится к эссенциальным микроэлементам и играет одну из главных ролей в широком спектре физиологических процессов, включая и иммунные реакции. Ферменты, содержащие в своём составе селен, обладают антиканцерогенным действием за счёт подавления экспрессии онкогенов, ингибирования активности протеинкиназы C, торможения процессов ангиогенеза, повышения активности противоопухолевых клонов естественных киллеров, стимуляции продукции интерлейкина-1 и интерлейкина-2 [4, 15, 16]. Селен обладает иммуностимулирующим действием, что измеряется широким спектром параметров, включая пролиферацию Т-клеток, активность NK-клеток, функции врождённых иммунных клеток [8]. Селен влияет на воспалительную сигнальную способность и антипатогенную активность макрофагов. Селен индуцирует переключение в активации макрофагов с фенотипа M1

на противовоспалительный фенотип M2 [12]. Результаты исследований показали, что селен и селенопротеины регулируют миграцию и процессы фагоцитоза в макрофагах [5].

В настоящее время известно более тысячи веществ, относящихся к химическим канцерогенам. Одним из них является уретан, который классифицирован Международным агентством по изучению рака как «вероятный канцероген для человека» — группа 2A. Уретан, или этиловый эфир карбаминовой кислоты в настоящее время используется в химической промышленности в качестве растворителя для различных органических материалов, при производстве пестицидов и фумигантов, является промежуточным продуктом при производстве органических химикатов, фармацевтических препаратов, необходим при получении аминосмол и при проведении исследований в биохимических лабораториях. В экспериментальных моделях под влиянием уретана у крыс и мышей развивается рак лёгкого [14].

CD68 является членом семейства лизосомальных и эндосомально-ассоциированных мембранных гликопротеинов, который в высокой степени экспрессируется моноцитами человека и тканевыми макрофагами. Белок в основном локализуется в лизосомах и эндосомах, меньшая часть циркулирует на клеточной поверхности. Это интегральный мембранный белок типа I с сильно гликозилированным внеклеточным доменом, который связывается с тканеспецифическими и органоспецифическими лектинами или селектинами. Белок также является членом семейства рецепторов-мусорщиков, стимулирующих фагоцитоз, привлечение и активацию макрофагов [6].

Цель исследования — изучить реакцию макрофагов тимуса у крыс на фоне приёма селена и введения химического канцерогена.

Материалы и методы

Работа выполнена на 32 крысах-самцах Wistar исходной массой 120–150 г, полученных из вивария медицинского факультета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова». Возраст животных на начало эксперимента составлял 2 мес. Исследование было одобрено на заседании локального этического комитета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова». На протяжении всего эксперимента животных содержали в стандартных условиях вивария, в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами», ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур». Все действия, предусматривавшие контакты с экспериментальными животными, проводились с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным (2008) и Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986).

Крысы были разделены на четыре группы. Первая (n=7) — интактная. Вторая (n=8) — животные после приёма селена с питьевой водой в дозировке 20 мкг/кг массы тела в сутки в течение 1 мес. (курсовой приём селена). Третья (n=8) — самцы с однократным внутрибрюшинным введением уретана в дозировке 1,0 г/кг массы тела. Четвёртая (n=9) — животные, которых ежедневно в течение месяца поили водой с селеном в дозировке 20 мкг/кг массы тела с последующим однократным внутрибрюшинным введением уретана в дозе 1,0 г/кг массы тела. Доза селена была выбрана как средняя профилактическая, исходя из имеющихся данных научных ис-

следований [1–3]. Дозировка уретана была выбрана из того расчёта, чтобы она обеспечивала развитие опухоли лёгкого у экспериментальных животных [18, 21].

Выведение животных из эксперимента проводилось через 30 дней после введения канцерогена и окончания приёма селена путём цервикальной дислокации с применением телазола из расчёта 15 мг/кг внутримышечно. Объектом исследования служил тимус. Тимус крыс опытной группы сравнивался с тимусом интактных животных соответствующего возраста. В эксперименте участвовали только те животные, у которых при однократном введении уретана были обнаружены изменения в ткани лёгких, верифицированные классическими общегистологическими методами исследования.

Материалы и методы

Измерение массы тела крыс и массы тимуса проводили с помощью порционных весов SW-02 и электронных лабораторных весов серии «Эва» Ска-120В.

Осуществлялась окраска гематоксилином и эозином с последующей морфометрией коркового и мозгового вещества тимуса.

Использовался иммуногистохимический метод с применением моноклональных антител к кластеру дифференцировки 68-го типа (CD68) для идентификации макрофагов в структурах тимопоэтического и нетимопоэтического микроокружения долек тимуса («Leica», Великобритания). Материал фиксировали 10%-ным нейтральным формалином в течение 24 ч, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 4 мкм, которые наносили на высокоадгезивные стёкла и высушивали при температуре 37 °С в течение 18 ч. Восстановление антигенной активности проводили в цитратном буфере pH=6,0 в автоклаве при температуре 96 °С в течение 20 мин с последующим остыванием в течение 90 мин. Для выявления иммуногистохимических реакций

в работе применялась система визуализации Leica ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND. С целью внутреннего контроля реакции использовали неиммунизированную кроличью сыворотку. Результаты реакций оценивали с применением микроскопа МИКРОМЕД 3 ЛЮМ. Положительной реакцией на CD68 считали коричневую окраску цитоплазмы клеток. Площадь иммуногистохимической реакции оценивали методом автоматического выделения и подсчёта площади интересующего цветового спектра (окрашенного DAB) по отношению к площади снимка. Полученные числовые значения переводились в процентное отношение к общей площади снимка.

Электронная микроскопия — исследование ультратонких срезов тимуса толщиной 60–80 нм методом просвечивающей электронной микроскопии проводилось в HRTEM режиме на просвечивающем электронном микроскопе Hitachi HT 7700 Exalens при ускоряющем напряжении 100 кэВ с разрешением 0,144 нм.

Компьютерная морфометрия — измерение площади мозгового и толщины коркового вещества тимуса выполнено с применением лицензионной программы «Микро-Анализ» (Россия).

Статистическую значимость полученных данных определяли по t-критерию Стьюдента. Данные представляли в виде средней арифметической величины (M) и её средней ошибки (m). Корреляционный анализ проводился по непараметрическому критерию Вилкоксона — Манна — Уитни.

Результаты исследований

При патоморфологическом исследовании препаратов лёгких у крыс, получавших в течение 30 дней селен, не обнаружено отличий от лёгких животных интактной группы. Через 30 дней после однократного введения уретана выявлено полнокровие ткани лёгкого, периваскулярное скопление лимфоцитарных клеток. При сочетанном

Таблица 1. Масса крыс и тимуса, площадь мозгового и толщина коркового вещества тимуса в интактной и опытных группах

Table 1. Mass of rats and the thymus, area of the medulla and thickness of the thymus cortex in the intact and experimental groups

Показатель	Интактные	Введение селена	Введение уретана	Сочетанное влияние двух факторов
Масса крысы, г	268,33±8,3	241,3±1,2	181,5±0,5	255,5±11,3
Масса тимуса, мг	109,5±22,04	192,35±9,25*	248,95±16,15*	241,1±33,1*
Площадь мозгового вещества, мкм ² ×10 ³	31413±3731,05	298796,4±26365,79*	199494±51363,12	531751,3±44134,18*
Толщина коркового вещества, мкм	266,7±20,05	253,58±7,65	342,68±61,12	333,183±54,77

Примечание: * — $p < 0,01$ по сравнению с показателями у интактных крыс.

Note: * — $p < 0,01$ compared to intact rats.

воздействию селена и канцерогена наблюдалось выраженное полнокровие лёгких.

При проведении эксперимента не было зафиксировано достоверного увеличения массы крыс по сравнению с интактными животными, но отмечалось достоверное увеличение массы тимуса у крыс во всех опытных группах (табл. 1). Корреляционный анализ показал отрицательную связь между массой тимуса интактных крыс и получавших селен ($r = -0,997$; $p < 0,05$), а также при сочетанном воздействии двух факторов ($r = -0,997$; $p < 0,05$). Положительная корреляция отмечается при однократном введении канцерогена ($r = 0,999$; $p < 0,05$).

У крыс, получавших селен в течение 1 мес., паренхима тимуса отчётливо разделена соединительнотканными септами на дольки округлой или полигональной формы с выраженной границей между корковым и мозговым веществом, отмечается расширение и полнокровие сосудов мозгового вещества. Анализ проведённой морфометрии выявил достоверное увеличение площади мозгового вещества по сравнению с интактной группой в 9,5 раза. Отмечается достоверная отрицательная корреляционная связь между толщиной коркового вещества тимуса интактных животных и получавших курсовой приём селена ($r = -0,994$; $p < 0,05$).

На фоне введения уретана происходят изменения в цитоархитектонике тимуса. Появляются дольки пальцевидной или прямоугольной формы. Достоверных измене-

ний толщины коркового и площади мозгового вещества не обнаружено.

При сочетанном воздействии двух факторов строение тимуса отличается от тимуса интактных крыс значительным увеличением площади мозгового вещества в 17 раз.

При иммуногистохимическом исследовании тимуса выявлено изменение экспрессии клеток CD68 во всех опытных группах по сравнению с интактными животными. В тимусе крыс, получавших селен, увеличивается количество CD68⁺-клеток в корковом веществе в 5,5 раза, в мозговом веществе — в 2 раза. Определяется достоверная отрицательная корреляционная связь между корковым веществом тимуса интактных животных и получавших курсовой приём селена ($r = -0,972$; $p < 0,05$).

Экспрессия CD68⁺-макрофагов в корковом и мозговом веществе превышает значения интактных животных в 2,5 раза у крыс с однократным внутрибрюшинным введением уретана. Высчитывается достоверная отрицательная корреляционная связь между площадью мозгового вещества тимуса интактных животных и получивших внутрибрюшинно уретан ($r = -0,994$; $p < 0,05$).

У животных с сочетанным воздействием селена и канцерогена количество CD68⁺-положительных макрофагов увеличивается в 1,6 раза в корковом и мозговом веществе по сравнению с крысами контрольной группы. При этом отмечается достоверная отрицательная корреляционная связь между

корковым ($r = -0,826$; $p < 0,05$) и мозговым ($r = -0,933$; $p < 0,05$) веществом тимуса интактных животных и получавших селен и уретан.

По результатам электронной микроскопии тимус крыс, получавших селен, по своей организации не отличается от тимуса животных интактной группы.

Ультрамикроскопическое исследование тимуса у крыс с введением уретана показало увеличение количества митохондрий со светлым матриксом до 8–10 шт. и большое количество электронно-прозрачных включений — 10–12 шт. в одной клетке. Визуализируются апоптотические тельца. У всех клеток отмечается нечёткий контур плазмолеммы.

При сочетанном воздействии селена и канцерогена определяется 6–8 митохондрий в одной клетке. Присутствует 7–8 электронно-прозрачных включений.

Обсуждение результатов

Таким образом, нами выявлено, что на фоне приёма селена происходят достоверные изменения размеров коркового и мозгового вещества тимуса, а также количества CD68⁺-клеток, что, возможно, связано с изменениями микроциркуляции в исследуемом органе, приводящими к усилению миграции макрофагов, и это обеспечивает иммуностимулирующее действие данного микроэлемента. Уретан относится к химическим канцерогенам, и при его попадании в организм увеличение уровня макрофагов связано с их фагоцитирующей и антиген-презентирующей функцией. Изменение уровня CD68-положительных макрофагов при сочетанном воздействии селена и уретана может быть обусловлено усилением апоптоза повреждённых клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Абрамцова А.В., Саградян Г.В., Пигунова Л.А., Репс В.Ф., Товбушенко Т.М. Механизмы действия модифицированной наночастицами селена минеральной воды «Красноармейский новый». *Курортная медицина*. 2016;1:26–34. [Abramtsova A.V., Sagradyan G.V., Pigunova L.A., Reps V.F., Tovbushenko T.M. Mekhanizmy deystviya modifitsirovannoy nanochastitsami selena mineral'noy vody «Krasnoarmeyskiy novyy» [Mechanisms of action of mineral water modified with selenium nanoparticles "Krasnoarmeyskiy novyy"]. *Kurortnaya meditsina* [Resort Medicine]. 2016;1:26–34. (In Russian)].
2. Какурский Л.В., Бескровнова Н.Н., Кудрин А.Н., Коган А.Х., Николов С.М. Морфологические показатели влияние селена и витамина Е на течение экспериментального инфаркта миокарда. *Кардиология*. 1976;16(11):31–37. [Kakurskii L.V., Beskrovnova N.N., Kudrin A.N., Kogan A.Kh., Nikolov S.M. Morfologicheskie pokazateli vliyaniye selena i vitamina E na techeniye eksperimental'nogo infarkta miokarda [Morphological parameters the effect of selenium and vitamin E on the course of experimental myocardial infarction]. *Kardiologiya* [Cardiology]. 1976;16(11):31–37. (In Russian)].
3. Кохан С.Т., Фёфелова Е.В., Максимиеня М.В., Терешков П.П., Кривошеева Е.М., Патенюк А.В., Шантанова Л.Н. Восстановление антиоксидантной и иммунной защиты организма селеносодержащими средствами при экспериментальном гипоселенозе. *Фундаментальные исследования*. 2012;11(4):837–841. [Kokhan S.T., Fefelova E.V., Maksimenya M.V., Tereshkov P.P., Krivosheeva E.M., Pateyuk A.V., Shantanova L.N. Vosstanovlenie i antioksidantnye selen-soderzhashchie sredstva immunooy zashchity pri eksperimental'nom giposelenoze [Restoration and antioxidant selenium-containing immune defences in experimental hyposelenosis]. *Fundamental'nye issledovaniya* [Fundamental research]. 2012;11(4):837–841. (In Russian)].
4. Обухова О.А., Курмуков И.А. Селен в онкологии. *Онкогинекология*. 2019;1(29):66–72. [Obukhova O.A., Kurmukov I.A. Selen v onkologii [Selenium in oncology]. *Onkoginekologiya* [Gynecologic Oncology]. 2019;1(29):66–72. (In Russian)]. DOI: 10.52313/22278710_2019_1_66.
5. Carlson B.A., Yoo M.H., Shrimali R.K., Irons R., Gladyshev V.N., Hatfield D.L., Park J.M. Role of selenium-containing proteins in T-cell and macrophage function. *Proc. Nutr. Soc.* 2010;69(3):300–310. DOI: 10.1017/S002966511000176X.
6. Chistiakov D.A., Killingsworth M.C., Myasoedova V.A., Orekhov A.N., Bobryshev Y.V. CD68/macrosialin: Not just a histochemical marker. *Lab. Invest.* 2017;97(1):4–13. DOI: 10.1038/labinvest.2016.116.
7. Fleetwood A.J., Lawrence T., Hamilton J.A., Cook A.D. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (CSF) and macrophage CSF-dependent macrophage

- phenotypes display differences in cytokine profiles and transcription factor activities: Implications for CSF blockade in inflammation. *J. Immunol.* 2007;178(8):5245–5252. DOI: 10.4049/jimmunol.178.8.5245.
8. Huang Z., Rose A.H., Hoffmann P.R. The role of selenium in inflammation and immunity: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid. Redox Signal.* 2012;16(7):705–743. DOI: 10.1089/ars.2011.4145.
 9. Jaguin M., Houlbert N., Fardel O., Lecureur V. Polarization profiles of human M-CSF-generated macrophages and comparison of M1-markers in classically activated macrophages from GM-CSF and M-CSF origin. *Cell. Immunol.* 2013;281(1):51–61. DOI: 10.1016/j.cellimm.2013.01.010.
 10. Locati M., Curtale G., Mantovani A. Diversity, mechanisms, and significance of macrophage plasticity. *Annu. Rev. Pathol.* 2020;15:123–147. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012718.
 11. Mosser D.M., Hamidzadeh K., Goncalves R. Macrophages and the maintenance of homeostasis. *Cell. Mol. Immunol.* 2021;18(3):579–587. DOI: 10.1038/s41423-020-00541-3.
 12. Nelson S.M., Lei X., Prabhu K.S. Selenium levels affect the IL-4-induced expression of alternative activation markers in murine macrophages. *J. Nutr.* 2011;141(9):1754–1761. DOI: 10.3945/jn.111.141176.
 13. Qiao D.R., Shan G.Y., Wang S., Cheng J.Y., Yan W.Q., Li H.J. The mononuclear phagocyte system in hepatocellular carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2022;28(45):6345–6355. DOI: 10.3748/wjg.v28.i45.6345.
 14. Radwan E., Ali M., Faied S.M.A., Omar H.M., Mohamed W.S., Abd-Elghaffar S.K., Sayed A.A. Novel therapeutic regimens for urethane-induced early lung cancer in rats: Combined cisplatin nanoparticles with vitamin-D3. *IUBMB Life.* 2021;73(2):362–374. DOI: 10.1002/iub.2432.
 15. Rataan A.O., Geary S.M., Zakharia Y., et al. Potential role of selenium in the treatment of cancer and viral infections. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(4):2215–2218. DOI: 10.3390/ijms23042215.
 16. Seo Y.R., Kelley M.R., Smith M.L. Selenomethionine regulation of p53 by a ref1-dependent redox mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002;99(22):14548–14553. DOI: 10.1073/pnas.212319799.
 17. Sica A., Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: In vivo veritas. *J. Clin. Invest.* 2012;122(3):787–795. DOI: 10.1172/JCI59643.
 18. Tannenbaum A., Vesselinovitch S.D., Maltoni C., Mitchell D.S. Multipotential carcinogenicity of urethane in the Sprague-Dawley rat. *Cancer Res.* 1962;22:1362–1371.
 19. Tarique A.A., Logan J., Thomas E., Holt P.G., Sly P.D., Fantino E. Phenotypic, functional, and plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2015;53(5):676–688. DOI: 10.1165/rcmb.2015-0012OC.
 20. Woo Y.D., Jeong D., Chung D.H. Development and functions of alveolar macrophages. *Mol. Cells.* 2021;44(5):292–300. DOI: 10.14348/molcells.2021.0058.
 21. Zheng J., Guo X., Nakamura Y., Zhou X., Yamaguchi R., Zhang J., Ishigaki Y., Uramoto H., Yamada S. Overexpression of PRDX4 modulates tumor microenvironment and promotes urethane-induced lung tumorigenesis. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2020;2020:8262730. DOI: 10.1155/2020/8262730.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ | INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Бубнова Наталья Владимировна, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова»;
e-mail: natalia210485@yandex.ru

Natalia V. Bubnova, I.N. Ulyanov Chuvash State University;
e-mail: natalia210485@yandex.ru

КАРДИОРЕСПИРАТОРНАЯ ВЫНОСЛИВОСТЬ ОБРАТНО ПРОПОРЦИОНАЛЬНА ТЯЖЕСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У МУЖЧИН

В.В. Сверчков*, Е.В. Быков

ФГБОУ ВО «Уральский государственный университет физической культуры»
454091, Российская Федерация, Челябинск, ул. Орджоникидзе, 1

Поддержание хорошего уровня физической подготовки за счёт регулярных физических упражнений имеет большое значение для лечения и профилактики метаболического синдрома (МС). Однако вопрос о том, какие компоненты физической подготовки оказывают наибольшее влияние, остаётся спорным. Цель настоящей работы состояла в изучении связи между кардиореспираторной выносливостью и z -показателем тяжести МС у мужчин. В исследовании приняли участие 44 нетренированных мужчины (средний возраст — $38,7 \pm 5,6$ года). Определялись антропометрические показатели (длина и масса тела, индекс массы тела), уровни глюкозы, триглицеридов, липопротеинов высокой плотности в плазме крови, артериальное давление, z -показатель тяжести МС. Также оценивался уровень кардиореспираторной выносливости в 12-минутном тесте Купера. Выявлена обратная связь между кардиореспираторной выносливостью и z -показателем тяжести МС у мужчин ($r = -0,84$; $p < 0,05$). Мужчины в самом высоком (1-м) квартиле кардиореспираторной выносливости имели статистически значимо более низкий z -показатель тяжести МС по сравнению с мужчинами, находившимися в самом нижнем (4-м) квартиле ($p < 0,01$). Также обследуемые, которые демонстрировали самые высокие показатели кардиореспираторной выносливости (1-й квартиль), имели статистически значимо более низкие уровни глюкозы в плазме натощак и обхват живота ($p < 0,05$), статистически значимо более низкие уровни триглицеридов крови и систолического артериального давления, а также более высокие уровни липопротеинов высокой плотности в крови ($p < 0,01$), чем лица с самой низкой кардиореспираторной выносливостью (4-й квартиль). Полученные данные подтверждают защитную роль кардиореспираторной выносливости от МС у мужчин.

Ключевые слова: кардиореспираторная выносливость, тяжесть метаболического синдрома, уровень физической подготовленности, тест Купера, максимальное потребление кислорода

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Сверчков В.В., Быков Е.В. Кардиореспираторная выносливость обратно пропорциональна тяжести метаболического синдрома у мужчин. *Биомедицина*. 2023;19(2):61–68. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-61-68>

Поступила 15.03.2023

Принята после доработки 27.04.2023

Опубликована 10.06.2023

CARDIORESPIRATORY ENDURANCE IS ASSOCIATED WITH METABOLIC SYNDROME SEVERITY IN MEN

Vadim V. Sverchkov*, Evgeny V. Bykov

Ural State University of Physical Culture
454091, Russian Federation, Chelyabinsk, Ordzhonikidze Str., 1

Maintaining a good level of fitness through regular exercise is essential for the treatment and prevention of metabolic syndrome (MS). However, the question of which components of physical fitness have the greatest impact remains controversial. We studied the relationship between cardiorespiratory endurance and MS severity z-score in men. The study involved 44 untrained men (38.7±5.6 years). Anthropometric parameters (height, weight, BMI), glucose level, triglyceride level, high-density lipoprotein level, blood pressure, and MS severity z-score were assessed. We also assessed the level of cardiorespiratory endurance in a 12-minute Cooper test. The results of our study showed an inverse relationship between the z-score of MS severity and cardiorespiratory endurance in men, which was ($r=-0.84$; $p<0.05$). People in the highest quartile of cardiorespiratory endurance (quartile 1) had a significantly lower MS severity z-score compared to people in the lowest quartile of cardiorespiratory endurance (quartile 4) ($p<0.01$). In addition, people who demonstrated the highest cardiorespiratory endurance (quartile 1) had statistically significantly lower fasting plasma glucose levels and abdominal girth ($p<0.05$), as well as statistically significantly lower levels of triglycerides, systolic blood pressure and higher levels of high-density lipoprotein ($p<0.01$) compared to people in the lowest quartile of cardiorespiratory endurance (quartile 4). The obtained data confirm the protective role of cardiorespiratory endurance against MS in men.

Keywords: metabolic syndrome, cardiorespiratory endurance, metabolic syndrome severity, physical fitness, Cooper test, maximal oxygen consumption

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

For citation: Sverchkov V.V., Bykov E.V. Cardiorespiratory Endurance is Associated with Metabolic Syndrome Severity in Men. *Journal Biomed.* 2023;19(2):61–68. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-61-68>

Submitted 15.03.2023

Revised 27.04.2023

Published 10.06.2023

Введение

Метаболический синдром (МС) — это совокупность кардиометаболических нарушений: абдоминального ожирения, дислипидемии, предгипертонии или гипертонии и нарушения толерантности к глюкозе [5]. Данное расстройство является одной из основных проблем здравоохранения, привлекающей внимание многих учёных [4]. Различные международные исследования продемонстрировали связь МС с повышением риска сердечно-сосудистых заболеваний, диабета 2-го типа, а также числа случаев смерти от болезней сердца и общей смертности [15]. В объединённом исследовании семи европейских ко-

горт высокие значения факторов метаболического риска — индекса массы тела, артериального давления, уровней глюкозы, общего холестерина и триглицеридов в плазме крови — были связаны с повышенным общим риском заболеваемости и смертности от рака у мужчин и женщин [19]. Распространённость МС оценивается в 25% в развитых странах и продолжает расти [22]. Значимость проблемы требует определения способов профилактики данного расстройства.

В качестве меры противодействия МС рекомендуется перейти к более здоровому образу жизни, включая изменения в режиме питания и физической активности [16].

Несколько предыдущих исследований показали, что поддержание уровня хорошей физической подготовки, регулярное выполнение различных физических упражнений имеют большое значение для лечения и профилактики МС [1, 17]. Однако, хотя широко распространено мнение, что повышение физической подготовки полезно для лиц с МС, вопрос о том, какие составляющие физической подготовки, включая кардиореспираторную подготовку, мышечную силу, ловкость и гибкость, оказывают наибольшее влияние на МС, остаётся спорным. Недавно было выявлено, что МС обусловлен уменьшением мышечной силы, при этом были определены пороговые её значения, повышающие риск МС. Так, пороговые значения, установленные для мышечной силы, оцениваемой по силе хвата, составили 1,07 кгс/кг для мужчин и 0,73 кгс/кг для женщин [14]. При этом в другом исследовании два параметра кардиореспираторной выносливости — максимальное потребление кислорода (МПК) и потребление кислорода на уровне анаэробного порога — показали тенденцию к постепенному снижению от группы без МС к группе с МС. МПК при выполнении ступенчатого теста на велоэргометре ниже 29,84 мл/(кг·мин) и потребление кислорода на уровне анаэробного порога менее 15,89 мл/(кг·мин) были признаны значительными компонентами риска пре-МС и МС [12], но не было выявлено заметной тенденции в отношении силы мышц, ловкости или гибкости. В нашем недавнем исследовании было установлено, что относительная мышечная сила мышц верхних и нижних конечностей была обратно пропорциональна тяжести МС у мужчин [1]. Несоответствие между результатами представленных исследований приводит к недопониманию относительно влияния физической подготовки на компоненты МС. Соответственно, связь между МС и физической подготовкой требует дальнейшего изучения и уточнения.

Цель настоящего исследования — изучение связи между z -показателем тяжести МС и уровнем кардиореспираторной выносливости у мужчин.

Материалы и методы

В исследовании, проводившемся на базе НИИ олимпийского спорта при Уральском государственном университете физической культуры, приняли участие 44 нетренированных мужчины в возрасте от 33 до 44 лет. Исследование было выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, у всех участников было получено письменное информационное согласие.

Антропометрические измерения проводились с использованием калибровочных инструментов. Масса тела измерялась при минимальном количестве одежды, с точностью до 0,1 кг, рост — в положении стоя, с точностью до 0,5 см. Индекс массы тела (ИМТ) рассчитывался как масса тела (кг), делённая на квадрат роста в метрах (m^2). Обхват живота измерялся с помощью неэластичной ленты между самой верхней боковой границей правой подвздошной кости и границей левой подвздошной кости, с точностью до 0,1 см.

Образцы крови натощак были взяты у участников после 12–14 ч ночного голодания, оценивались уровни глюкозы, триглицеридов, липопротеинов высокой плотности (ЛПВП).

Измерение САД было выполнено в сидячем положении после 15 мин отдыха, на правой руке с использованием автоматического тонометра «Omron M2 Eсо» (Япония).

Расчет z -показателя тяжести МС (z -показатель тМС) проводился согласно методологии M.D. DeBoer, M.J. Gurka (подробно методология расчёта, зависящая от пола и расы/этнической принадлежности, была опубликована в [7]). Более высокий z -показатель тМС указывает на менее благоприятный метаболический профиль.

Для оценки кардиореспираторной выносливости использовался 12-минутный тест Купера [9] на электрической беговой дорожке «Technogym» (Италия). Участники исследования должны были преодолеть как можно большее расстояние за 12 мин. Во время выполнения теста разрешалось временно переходить на ходьбу или останавливаться на отдых. При наличии неприятных ощущений у испытуемого выполнение теста прекращалось. Затем регистрировалась преодоленная дистанция (ПД) с точностью до 1 м. Метры затем переводились в мили. По показателям данного теста рассчитывались значения МПК мл/(кг·мин) [9]:

$$МПК = 0,0268 \times ПД - 11,3.$$

Для каждого показателя рассчитывались среднее значение и стандартное отклонение ($M \pm \sigma$) в программе LibreOffice Calc. Связь между уровнем кардиореспираторной выносливости и z -показателем тяжести МС устанавливалась по коэффициенту корреляции Пирсона r (при $\alpha=0,05$). Для анализа участники были разделены на четыре группы — от самого высокого (1-й квартиль) до самого низкого (4-й квартиль) уровня МПК. Оценка статистической значимости различий между 1-м и 4-м квартилями проводилась с применением критериев Стьюдента и Фишера (при $\alpha=0,05$).

Таблица 1. Общая характеристика участников исследования

Table 1. General characteristics of the study participants

Показатель	Значение ($M \pm \sigma$)
Возраст, годы	38,75±5,65
Масса тела, кг	95,25±9,52
ИМТ	28,65±3,54
Обхват живота, см	92,92±4,48
САД, мм рт. ст.	132,14±3,64
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,75±0,21
Триглицериды, ммоль/л	1,48±0,26
ЛПВП, ммоль/л	1,21±0,18
МПК (расч.), мл/(кг·мин)	28,67±3,02
z -показатель тМС	0,29±0,26

Основные параметры выборки представлены в табл. 1.

Результаты исследований

Обнаружена обратная корреляция (рис. 1) между кардиореспираторной выносливостью, измеренной в тесте Купера, и z -показателем тМС ($r=-0,84$; $p<0,05$) у обследованных мужчин.

Разделение испытуемых по квартилям уровня кардиореспираторной выносливости позволило определить (табл. 2, рис. 2), что лица, находящиеся в верхнем (1-м) квартиле выносливости ($32,41 \pm 1,27$ мл/(кг·мин)), имели самый низкий z -показатель тяжести МС ($-0,01 \pm 0,17$), статистически значимо ($p<0,01$) отличающийся от показателя тяжести МС ($0,55 \pm 0,17$) у лиц, находившихся в нижнем (4-м) квартиле выносливости ($24,79 \pm 1,56$ мл/(кг·мин)). Уровни триглицеридов, ЛПВП, САД ($p<0,01$), а также уровни глюкозы натощак и обхват живота ($p<0,05$) статистически значимо различались между 1-м и 4-м квартилями кардиореспираторной выносливости.

Обсуждение результатов

Результаты настоящего исследования согласуются с данными об обратной связи между кардиореспираторной выносливостью и МС. Так, в работе [12] параметры МПК, потребления кислорода на уровне анаэробного порога и уровень холестерина ЛПВП имели тенденцию к постепенному снижению у лиц с МС относительно лиц, не имеющих МС. В другом исследовании лица с самой высокой выносливостью (5-й квантиль) имели значительно меньшую распространённость МС (14,5 и 14,8% для женщин и мужчин соответственно) по сравнению с их сверстниками (40,4 и 46,4% для женщин и мужчин соответственно) с самой низкой аэробной выносливостью (1-й квантиль) [13]. Анализируя результаты двух клинических испытаний с участием 170 афро-

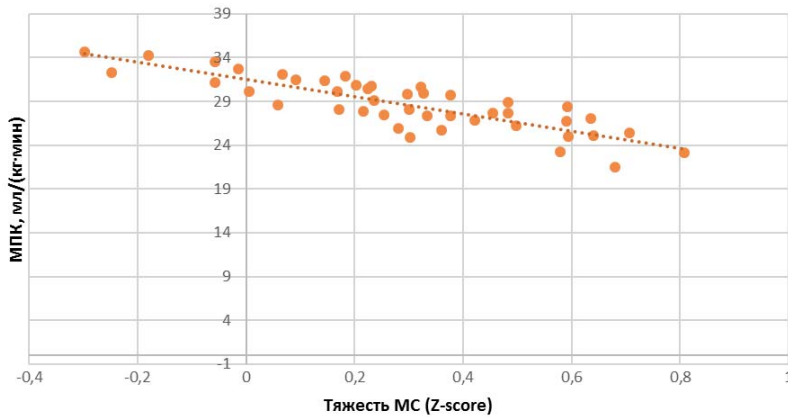


Рис. 1. Корреляционная зависимость между расчётным показателем МПК и z-показателем тМС у мужчин.
Fig. 1. Correlation dependence between the calculated index of VO2 and the metabolic syndrome severity z-score in men.

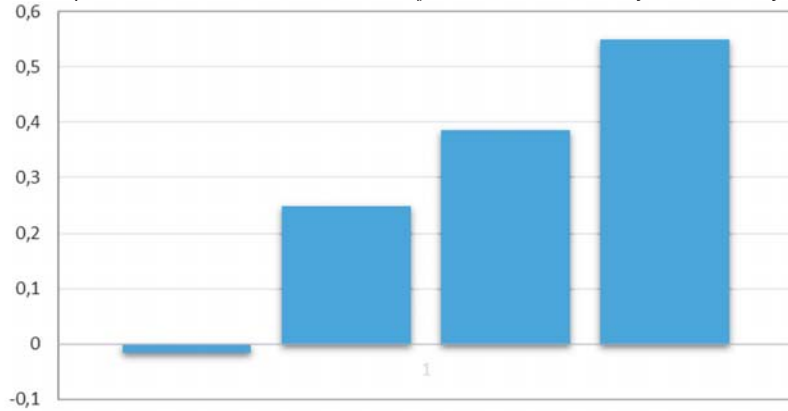


Рис. 2. Z-показатель тМС у мужчин в зависимости от квантиля уровня их кардиореспираторной выносливости.
Fig. 2. Metabolic syndrome severity Z-score in men depending on the quartile of their cardiorespiratory endurance level.

Таблица 2. Сравнение показателей МС между квантилями уровня кардиореспираторной выносливости мужчин
Table 2. Comparison of MS indicators between quartiles of the level of cardiorespiratory endurance in men

Показатель	Квантиль уровня выносливости			
	1-й (высокий)	2-й	3-й	4-й (низкий)
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,63±0,11	5,71±0,13	5,77±0,09	5,89±0,18 ^A
Триглицериды, ммоль/л	1,29±0,22	1,41±0,07	1,51±0,16	1,71±0,13 ^B
Обхват живота, см	90,64±3,5	92,27±3,07	93,18±4,75	95,36±5,35 ^A
САД, мм рт. ст.	130±3,46	131,73±3,04	132,73±2,61	134,54±2,25 ^B
ЛПВП, ммоль/л	1,35±0,19	1,19±0,12	1,11±0,08	1,08±0,11 ^B
z-показатель тМС	-0,01±0,17	0,25±0,14	0,38±0,15	0,55±0,17 ^B

Примечание: квантили уровня кардиореспираторной выносливости соответствовали следующим значениям МПК: 1-й — 32,41±1,27 мл/(кг·мин); 2-й — 29,83±0,71 мл/(кг·мин); 3-й — 27,65±0,45 мл/(кг·мин); 4-й — 24,79±1,56^B мл/(кг·мин), при этом отличие между 1-м и 4-м квантилем было статистически значимо ($p<0,01$). Установлена статистическая значимость различий по сравнению с 1-м квантилем: ^A — $p<0,05$; ^B — $p<0,01$.
Note: quartiles of the level of cardiorespiratory endurance corresponded to the following values of the IPC: 1st — 32.41±1.27 ml/(kg·min); 2nd — 29.83±0.71 ml/(kg·min); 3rd — 27.65±0.45 ml/(kg·min); 4th — 24.79±1.56^B ml/(kg·min), while the difference between the 1st and 4th quartiles was statistically significant ($p<0.01$). The statistical significance of differences compared to the 1st quartile was established: ^A — $p<0.05$; ^B — $p<0.01$.

американских женщин в постменопаузе в возрасте 40–65 лет, авторы работы [1] показали, что люди с очень низким уровнем кардиореспираторной выносливостью (<18 мл/(кг·мин)) имели более высокую распространенность МС, абдоминального ожирения, гипертриглицеридемии и низкого уровня ЛПВП по сравнению с людьми с умеренной аэробной подготовленностью (>22 мл/(кг·мин)), при этом обратная связь между выносливостью и МС оставалась значительной после поправок на возраст, семейное положение, доход, образование, состав тела и другие факторы риска. В продольном исследовании образа жизни в рамках программы фитнеса для взрослых в университете Болл-Стейт с участием 3636 взрослых (из них 1629 женщин) авторы работы [11] также обнаружили дифференцированную обратную связь между квартилями выносливости и наличием компонентов МС как для женщин, так и для мужчин, при этом обратная связь оставалась статистически значимой даже после поправок на возраст, физическую активность и статус курения.

Насколько нам известно, мы впервые оценили связь между кардиореспираторной выносливостью и z-показателем тМС. Z-показатель тяжести МС, разработанный М. DeBoer и М. Gurka, специфичен для пола и расы/этнической принадлежности [7]. Исследования продемонстрировали, что z-показатель тМС может хорошо предсказать возникновение сердечно-сосудистых заболеваний или диабета 2-го типа в детском и взрослом возрасте [8]. Более того, на выборке в 2 541 364 человека непрерывная оценка тМС имела лучшую прогностическую способность для определения риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, чем традиционный критерий АТР-III [10].

Независимая и обратная связь между кардиореспираторной выносливостью и z-показателем тМС может быть обусловлена несколькими механизмами. Во-первых, аэробная выносливость положительно связана с чувствительностью к инсулину и/или действием инсулина как у лиц с избыточным весом, ожирением и диабетом 2-го типа [3], так и у здоровых субъектов [20], что подразумевает её защитный эффект против МС за счёт повышения чувствительности к инсулину. Во-вторых, слабовыраженное воспаление связано с этиологией МС. Напротив, высокий уровень кардиореспираторной выносливости обеспечивает защитный эффект против МС посредством подавления провоспалительных процессов и усиления противовоспалительных [22]. В-третьих, опосредованная оксидом азота вазодилатация нарушается при инсулинорезистентности и МС [18], что может привести к нарушению доставки кислорода к скелетным мышцам в ответ на физическую нагрузку и, как следствие, к снижению кардиореспираторной выносливости. Наконец, митохондриальная дисфункция, характерная для МС, также может способствовать снижению кардиореспираторной выносливости [7].

Выводы

Результаты текущего исследования впервые демонстрируют зависимость между z-показателем тМС и кардиореспираторной выносливостью у мужчин. Таким образом, исследование подтвердило защитную роль высокого уровня кардиореспираторной выносливости при развитии и прогрессировании МС у мужчин. Следовательно, переход к более активному образу жизни и стремление к повышению кардиореспираторной выносливости могут иметь клиническое значение для снижения риска, а также лечения МС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Сверчков В.В., Быков Е.В. Мышечная сила и тяжесть метаболического синдрома. Олимпийский спорт и спорт для всех. Матлы XXVI Международного научного Конгресса. Под общ. ред. Р.Т. Бурганова. 2021:409–411. [Sverchkov V.V., Bykov E.V. Myshechnaya sila i tyazhest' metabolicheskogo sindroma. Olimpiyskiy sport i sport dlya vseh [Muscle strength and severity of metabolic syndrome. Olympic sport and sport for all]. Mat-ly XXVI Mezhduнародного nauchnogo Kongressa [Proceedings of the XXVI International Scientific Congress]. Ed. by R.T. Burganov. 2021:409–411. (In Russian)].
2. Сверчков В.В., Мороз Е.В., Быков Е.В. Почему силовые тренировки важны для людей с метаболическим синдромом, преддиабетом и диабетом 2 типа? Научно-спортивный вестник Урала и Сибири. 2021;4(32):12–17. [Sverchkov V.V., Moroz E.V., Bykov E.V. Pochemu silovye trenirovki vazhny dlya lyudey s metabolicheskim sindromom, prediabetom i диабетом 2 типа? [Why is strength training important for people with metabolic syndrome, prediabetes, and type 2 diabetes?]. Nauchno-sportivnyy vestnik Urala i Sibiri [Scientific and sports bulletin of the Urals and Siberia]. 2021;4(32):12–17. (In Russian)].
3. Adams-Campbell L.L., Dash C., Kim B.H., Hicks J., Makambi K., Hagberg J. Cardiorespiratory fitness and metabolic syndrome in postmenopausal African-American women. *Int. J. Sports Med.* 2016;37(4):261–266. DOI: 10.1055/s-0035-1569284.
4. Apostolopoulou M., Strassburger K., Herder C., Knebel B., Kotzka J., Szendroedi J., Roden M., GDS group. Metabolic flexibility and oxidative capacity independently associate with insulin sensitivity in individuals with newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2016;59(10):2203–2207. DOI: 10.1007/s00125-016-4038-9.
5. Bagheri P., Khalili D., Seif M., Rezaianzadeh A. Dynamic behavior of metabolic syndrome progression: A comprehensive systematic review on recent discoveries. *BMC Endocr. Disord.* 2021;21(1):54. DOI: 10.1186/s12902-021-00716-7.
6. Cho K.K., Kim Y.H., Kim Y.H. Association of fitness, body circumference, muscle mass, and exercise habits with metabolic syndrome. *J. Men's Health.* 2019;15(3):46–55. DOI: 10.22374/jomh.v15i3.152.
7. Cuthbertson D.J., Bowden Davies K. Higher levels of cardiorespiratory fitness keep liver mitochondria happy! *J. Physiol.* 2017;595(17):5719–5720. DOI: 10.1113/JP274592.
8. DeBoer M.D., Gurka M.J. Clinical utility of metabolic syndrome severity scores: Considerations for practitioners. *Diabetes Metab. Syndr. Obes.* 2017;10:65–72. DOI: 10.2147/DMSO.S101624.
9. DeBoer M.D., Gurka M.J., Woo J.G., Morrison J.A. Severity of metabolic syndrome as a predictor of cardiovascular disease between childhood and adulthood: The Princeton lipid research cohort study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2015;66(6):755–757. DOI: 10.1016/j.jacc.2015.05.061.
10. Hoffman J. *Norms for fitness, performance, and health.* Champaign: Human Kinetics; 2006.
11. Jang Y.N., Lee J.H., Moon J.S., Kang D.R., Park S.Y., Cho J., Kim J.-Y., Huh J.H. Metabolic syndrome severity score for predicting cardiovascular events: A nationwide population-based study from Korea. *Diabetes Metab. J.* 2021;45(4):569–577. DOI: 10.4093/dmj.2020.0103.
12. Kelley E., Imboden M.T., Harber M.P., Finch H., Kaminsky L.A., Whaley M.H. Cardiorespiratory fitness is inversely associated with clustering of metabolic syndrome risk factors: The ball state adult fitness program longitudinal lifestyle study. *Mayo Clin. Proc. Innov. Qual. Outcomes.* 2018;2(2):155–164. DOI: 10.1016/j.mayocpiqo.2018.03.001.
13. Kim B., Ku M., Kiyoji T., Isobe T., Sakae T., Oh S. Cardiorespiratory fitness is strongly linked to metabolic syndrome among physical fitness components: A retrospective cross-sectional study. *J. Physiol. Anthropol.* 2020;39(1):30. DOI: 10.1186/s40101-020-00241-x.
14. Lee I., Kim S., Kang H. Non-exercise based estimation of cardiorespiratory fitness is inversely associated with metabolic syndrome in a representative sample of Korean adults. *BMC Geriatr.* 2020;20(1):146. DOI: 10.1186/s12877-020-01558-z.
15. Lima T.R., González-Chica D.A., D'Orsi E., Sui X., Silva D.A.S. Muscle strength cut-points for metabolic syndrome detection among adults and the elderly from Brazil. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2021;46(4):379–388. DOI: 10.1139/apnm-2020-0758.
16. Lind L., Sundström J., Årnlöv J., Risérus U., Lampa E. A longitudinal study over 40 years to study the metabolic syndrome as a risk factor for cardiovascular diseases. *Sci. Rep.* 2021;11(1):2978. DOI: 10.1038/s41598-021-82398-8.
17. Marcos-Delgado A., Hernández-Segura N., Fernández-Villa T., Molina A.J., Martín V. The effect of lifestyle intervention on health-related quality of life in adults with metabolic syndrome: A meta-analysis. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2021;18(3):887. DOI: 10.3390/ijerph18030887.
18. Myers J., Kokkinos P., Nyelin E. Physical activity, cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. *Nutrients.* 2019;11(7):1652. DOI: 10.3390/nu11071652.
19. Reusch J.E. Current concepts in insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, and the metabolic syndrome. *Am. J. Cardiol.* 2002;90(5A):19G–26G. DOI: 10.1016/s0002-9149(02)02555-9.
20. Stocks T., Bjørge T., Ulmer H., Manjer J., Häggström C., Nagel G., Engeland A., Johansen D., Hallmans G., Selmer R., Concini H., Tretli S., Jonsson H., Stattin P. Metabolic risk score and cancer risk: Pooled analysis

- of seven cohorts. *Int. J. Epidemiol.* 2015;44(4):1353–1363. DOI: 10.1093/ije/dyv001.
21. Vella C.A., Van Guilder G.P., Dalleck L.C. Low cardiorespiratory fitness is associated with markers of insulin resistance in young, normal weight, Hispanic women. *Metab. Syndr. Relat. Disord.* 2016;14(5):272–278. DOI: 10.1089/met.2015.0135.
22. Wang H.H., Lee D.K., Liu M., Portincasa P., Wang D.Q.-H. Novel insights into the pathogenesis and management of the metabolic syndrome. *Pediatr. Gastroenterol. Hepatol. Nutr.* 2020;23(3):189–230. DOI: 10.5223/pghn.2020.23.3.189.
23. Wedell-Neergaard A.-S., Krogh-Madsen R., Petersen G.L., Hansen Å.M., Pedersen B.K., Lund R., Bruunsgaard H. Cardiorespiratory fitness and the metabolic syndrome: Roles of inflammation and abdominal obesity. *PLoS One.* 2018;13(3):e0194991. DOI: 10.1371/journal.pone.0194991.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Сверчков Вадим Владимирович*, ФГБОУ ВО «Уральский государственный университет физической культуры»;
e-mail: Vadim.sverchkov@yandex.ru

Vadim V. Sverchkov*, Ural State University of Physical Culture;
e-mail: Vadim.sverchkov@yandex.ru

Быков Евгений Витальевич, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Уральский государственный университет физической культуры»;
e-mail: bev58@yandex.ru

Evgeny V. Bykov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Ural State University of Physical Culture;
e-mail: bev58@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-69-77>

РЕЗУЛЬТАТЫ I ФАЗЫ ОТКРЫТОГО КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ НА ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦАХ ПРЕПАРАТА ДИРЕКОРД

И.А. Помыткин^{1*}, В.В. Писарев², М.Е. Меркулов², С.М. Носков³, Н.Н. Каркищенко¹

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

² ООО «Научно-производственный центр Пробиотек»
119992, Российская Федерация, Москва, мкр. Ленинские горы, 1, стр. 75В

³ ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России
150000, Российская Федерация, Ярославская обл., Ярославль, ул. Революционная, 5

Дирекорд — оригинальный препарат, содержащий действующее вещество дихолинсукцинат, улучшающее чувствительность инсулиновых рецепторов в нейронах к инсулину. Целью работы было изучение переносимости, безопасности и фармакокинетических параметров дихолинсукцината при внутримышечном введении в клиническом исследовании I фазы на здоровых добровольцах. В исследование было рандомизировано 18 здоровых добровольцев (11 мужчин и 7 женщин), средний возраст — 30,4±7,8 года. На I этапе 6 добровольцам (группа 1) вводили исследуемый препарат через день с эскалацией дозы от 0,16 мг/кг/сут до 600 мг/сут. На II этапе 12 добровольцам (группа 2) однократно вводили исследуемый препарат в дозе 200 мг и этим же 12 добровольцам на III этапе вводили исследуемый препарат в дозе 600 мг/день (3×200 мг с интервалом 8 ч) в течение 7 дней. Популяция безопасности в данном исследовании включала всех рандомизированных добровольцев. Данные от 12 добровольцев (группа 2) были включены в расчёт фармакокинетических параметров препарата. Все добровольцы завершили все процедуры трёх этапов исследования в соответствии с протоколом. По данным клинического и лабораторного мониторинга, в исследовании не зарегистрировано нежелательных явлений. Препарат имел хорошую переносимость: признаков гиперемии, отёков и гематом в месте инъекций выявлено не было; жалоб на болезненность, зуд и жжение добровольцы не предъявляли. После однократного введения дихолинсукцината концентрация холина в кровотоке достигает максимального значения в среднем через 0,375±0,365 ч, период полувыведения составляет 1,271±1,071 ч. После многократного введения в дозе 600 мг/сут кумуляции действующего вещества не наблюдалось. На основании полученных данных можно сделать вывод, что препарат обладает хорошим профилем безопасности и может быть рекомендован для дальнейшего изучения в исследовании с участием пациентов.

Ключевые слова: Дирекорд — I фаза клинических исследований, дихолинсукцинат, нейрональный инсулин-сенситайзер, фармакокинетика, внутримышечное введение, переносимость, безопасность, последовательная эскалация дозы

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: ООО «Эллара», 601122, Российская Федерация, Владимирская обл., Петушинский р-н, г. Покров, ул. Франца Штольверка, 20.

Для цитирования: Помыткин И.А., Писарев В.В., Меркулов М.Е., Носков С.М., Каркищенко Н.Н. Результаты I фазы открытого клинического исследования на здоровых добровольцах препарата Дирекорд. *Биомедицина*. 2023;19(2):69–77. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-69-77>

Поступила 24.04.2023

Принята после доработки 15.05.2023

Опубликована 10.06.2023

RESULTS OF A PHASE I OPEN-LABEL CLINICAL TRIAL OF DIREKORD IN HEALTHY VOLUNTEERS

Igor A. Pomytkin^{1*}, Vladimir V. Pisarev², Mikhail E. Merkulov², Sergey M. Noskov³,
Nikolay N. Karkischenko¹

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

² Scientific and Production Center Probiotek
119992, Russian Federation, Moscow, Leninskie Gory Mcd., 1, Build. 75B

³ Yaroslavl State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia
150000, Russian Federation, Yaroslavl Region, Yaroslavl, Revolutionnaya Str., 5

Direkord is an original drug containing the active substance of dicholine succinate, which enhances neuronal insulin sensitivity. In this work, we study the tolerability, safety, and pharmacokinetic parameters of dicholine succinate when administered intramuscularly in a phase I clinical trial in healthy volunteers. In total, 18 healthy volunteers – 11 men and 7 women – with a mean age of 30.4 ± 7.8 years, were recruited into a randomized study. At stage I, 6 volunteers (group 1) received dicholine succinate intramuscularly every other day with a dose escalation from 0.16 mg/kg/day to 600 mg/day. At stage II, 12 volunteers (group 2) received dicholine succinate intramuscularly at a single dose of 200 mg, and then, at stage III, the same 12 volunteers received dicholine succinate at a dose of 600 mg/day (3 x 200 mg at an interval of 8 hours) for seven days. The safety population in this study included all randomized volunteers. Data from 12 volunteers (group 2) were included in the calculation of the pharmacokinetic parameters. All volunteers completed all procedures of the three research stages in accordance with the protocol. According to clinical and laboratory monitoring data, no adverse events were registered during the study. The drug was well tolerated, with no signs of hyperemia, edema, and bruising being observed at the injection site. The volunteers did not complain of pain, itching, and burning. After a single injection of dicholine succinate, the concentration of choline in the bloodstream reached its maximum value after an average of 0.375 ± 0.365 hours with the half-life of 1.271 ± 1.071 hours. After repeated administration at a dose of 600 mg per day, no cumulation of the active substance was observed. The data obtained have confirmed a good safety profile of Direkord; therefore, the drug can be recommended for further investigation in a study involving patients.

Keywords: Direkord — phase I clinical trial, dicholine succinate, neuronal insulin sensitizer, pharmacokinetics, intramuscular solution, tolerability, safety, sequential dose escalation

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

Funding: “Ellara” LLC, 601122, Russian Federation, Vladimir Region, Petushinsky District, Pokrov, Franz Stollwerk Str., 20.

For citation: Pomytkin I.A., Pisarev V.V., Merkulov M.E., Noskov S.M., Karkischenko N.N. Results of a Phase I Open-Label Clinical Trial of Direkord in Healthy Volunteers. *Journal Biomed.* 2023;19(2):69–77. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-69-77>

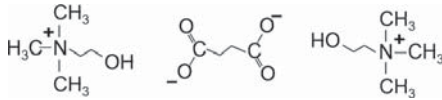
Submitted 24.04.2023

Revised 15.05.2023

Published 10.06.2023

Введение

Дирекорд — оригинальный препарат, содержащий в качестве действующего вещества дихолинсукцинат, соль холина и янтарной кислоты 2:1, имеющий структурную формулу:



Дихолинсукцинат в микромолярных концентрациях повышает чувствительность инсулиновых рецепторов в нейронах, повышая аутофосфорилирование рецептора в ответ на низкие субоптимальные дозы инсулина [8, 9]. Инсулиновые рецепторы широко распространены в центральной нервной системе (ЦНС), где инсулин регулирует множество процессов, включая поддержание энергетического метаболизма мозга [1, 2, 5]. Церебральная гипоксия вызывает массовый выброс глутамата в возбуждающих синапсах, явление т. н. глутаматной эксайтотоксичности, которая, помимо прочего, ведёт к острой инсулиновой резистентности — снижению биологического ответа на инсулин [3, 4, 6]. Поэтому поиск средств, улучшающих чувствительность нейронов к инсулину, может быть новым подходом к терапии гипоксических состояний и церебральной ишемии.

Доклинические исследования дихолинсукцината показали, что он проявляет защитное действие на биомоделях гипоксии и церебральной ишемии. В модели глобальной ишемии на крысах дихолинсукцинат предотвращал падение энергетического метаболизма в мозге, снижая скорость падения уровней АТФ и фосфокреатина в мозге по данным ^{31}P ЯМР *in vivo* [7]. В модели хронической церебральной гипоперфузии на крысах дихолинсукцинат предотвращал снижение когнитивных функций и уровня N-ацетиласпартата, маркера выживаемости нейронов в мозге, по данным ^1H ЯМР

in vivo [8]. Всё это указывает на потенциал дихолинсукцината как нового средства лечения церебральной ишемии.

Целью работы было изучение переносимости, безопасности и фармакокинетических параметров препарата Дирекорд при внутримышечном введении в клиническом исследовании I фазы на здоровых добровольцах.

Материалы и методы

Открытое, с последовательной эскалацией дозы, исследование безопасности, переносимости и фармакокинетики препарата Дирекорд проведено на базе ГБУЗ Ярославской области «Клиническая больница № 3» (г. Ярославль) с участием клинической лаборатории «МедИнКом» (г. Ярославль) и биоаналитической лаборатории НПЦ «Пробиотек» (г. Москва) с 01.08.2016 по 27.12.2016. Клиническое исследование I фазы проводили в соответствии с утверждённым протоколом и этическими принципами Хельсинкской Декларации Всемирной медицинской ассоциации, трёхсторонним соглашением по Надлежащей клинической практике (ICH GCP) и регламентировалось действующим законодательством РФ: Конституция РФ; Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации»; Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»; Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика» от 27.09.2005 № 232-ст; Постановление Правительства РФ от 13.09.2010 № 714 «Об утверждении типовых правил обязательного страхования жизни и здоровья пациента, участвующего в клинических исследованиях лекарственного препарата»; Постановление Правительства РФ от 18.05.2011 № 393 «О внесении изменений в типовые правила

обязательного страхования жизни и здоровья пациента, участвующего в клинических исследованиях лекарственного препарата»; Разрешение № 287 на проведение клинического исследования от 25.04.2016, выданное Минздравом России; дополнения к Разрешению № 287 — Письмо Минздрава России № 4016394-20-1/ДР от 12.07.2016. Протокол исследования, Брошюра исследователя, Информационный листок пациента с формой информированного согласия на участие в исследовании и образец Индивидуальной регистрационной карты были одобрены Локальным этическим комитетом ГБУЗ ЯО «КБ № 3» до начала включения добровольцев в исследование (Протокол заседания ЛЭК № 63 от 12.07.2016). Всем добровольцам в ходе разъяснительной беседы и в письменной форме была предоставлена исчерпывающая информация, касающаяся всех аспектов проводимого исследования.

Критерии отбора. В исследовании участвовали 18 здоровых добровольцев. Главным критерием включения был верифицированный диагноз «здоров», который определялся как отсутствие отклонений, выявленных при подробном медицинском анамнезе, полном врачебном осмотре, включающем измерение АД и ЧСС, температуры тела, ЭКГ в 12 отведениях и по результатам клинических лабораторных исследований. В исследование не включались добровольцы, имевшие гиперчувствительность к янтарной кислоте, препаратам, содержащим холин, агонистам и антагонистам холинергической системы; а также тяжёлые реакции гиперчувствительности в анамнезе, вне зависимости от причины их вызвавшей.

План исследования. Добровольцы были случайным образом распределены в две группы (рис. 1). На I этапе 6 добровольцам (группа 1) многократно вводили исследуемый препарат, через день с эскалацией дозы от 0,16 мг/кг/сут до 600 мг/сут. На II этапе 12 добровольцам (группа 2)

однократно вводили исследуемый препарат в дозе 200 мг. На III этапе этим же 12 добровольцам ежедневно в течение 7 дней вводили исследуемый препарат в дозе 600 мг/сут (3×200 мг с интервалом 8 ч). Популяция безопасности в данном исследовании включала всех рандомизированных добровольцев. Данные от 12 добровольцев (группа 2), полученные на II и III этапах исследования, были включены в расчёт фармакокинетических параметров.

Исследование фармакокинетики. Концентрация холина в плазме крови добровольцев измерялась методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием, предел обнаружения — 0,1 мкг/мл. Эндогенный холин (базовая линия) измерялся в плазме крови каждого добровольца до введения препарата в точке –0,5 ч на II этапе исследования. Абсолютные и скорректированные на базовую линию значения концентраций холина в плазме крови после однократного и многократного введения дихолинсукцината использовались для расчёта следующих фармакокинетических параметров:

C_{max} (мкг/мл) — максимальная концентрация вещества в плазме крови добровольца после внутримышечного введения;

TC_{max} (ч) — время достижения максимальной концентрации вещества в плазме крови добровольца после внутримышечного введения;

AUC_{0-t} (мкг·ч/мл) — площадь под фармакокинетической кривой после внутримышечного введения до времени отбора последнего образца крови t ;

$AUC_{0-\infty}$ (мкг·ч/мл) — площадь под фармакокинетической кривой после внутримышечного введения до бесконечности, рассчитанная как $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C_t/k_{el}$, где C_t — это последняя измеренная концентрация вещества в плазме крови;

$AUC_{0-t}/AUC_{0-\infty}$ (%) — отношение значений AUC_{0-t} к $AUC_{0-\infty}$, выраженное в процен-

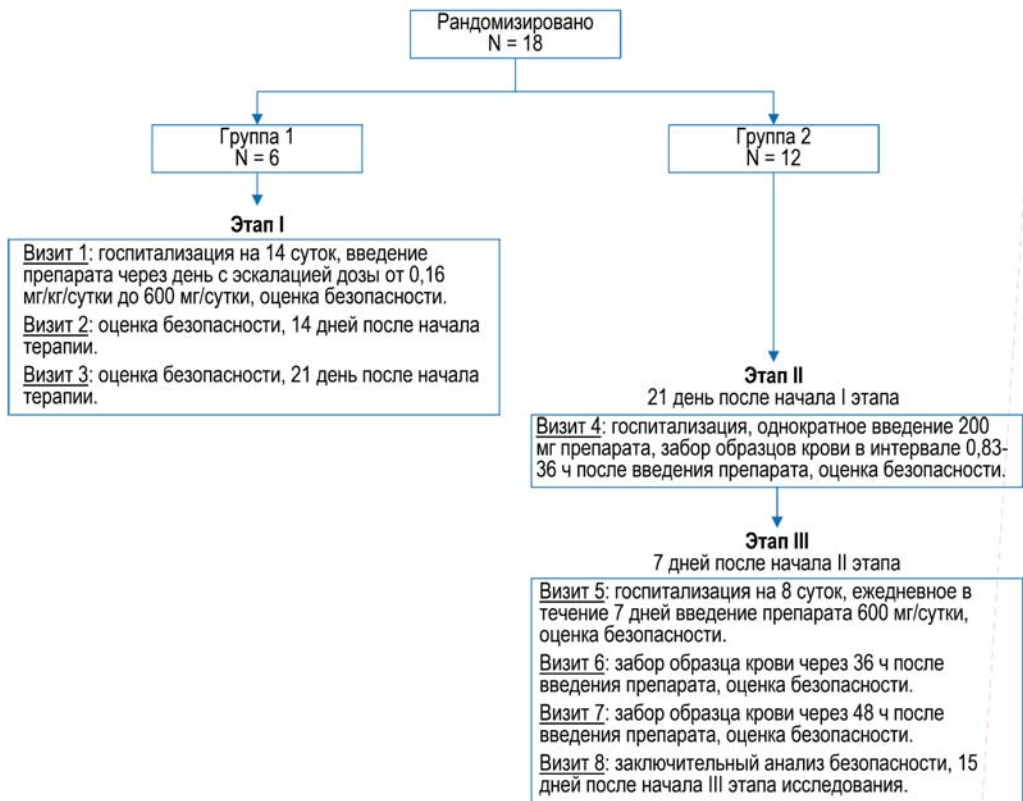


Рис. 1. План исследования.
Fig. 1. Research design.

тах, определяется как индикатор достаточности времени отбора образцов крови;

C_{max}/AUC_{0-t} ($ч^{-1}$) — относительная скорость всасывания в системный кровоток;

$T_{1/2}$ (ч) — период полувыведения; рассчитывается как натуральный логарифм $\ln 2/k_{el}$;

k_{el} ($ч^{-1}$) — константа скорости элиминации представляет собой долю вещества, элиминируемую из кровотока в единицу времени;

C_{min} (мкг/мл) — значение концентрации вещества в плазме крови добровольца в конце интервала дозирования;

AUC_{τ} (мкг·ч/мл) — площадь под фармакокинетической кривой в пределах интервала дозирования (рассчитывается по методу трапеций).

Оценка безопасности. Регистрация нежелательных явлений (НЯ), связанных, по мнению исследователя, с применением исследуемого препарата, проводилась на протяжении всего исследования. Основным параметром безопасности была доля добровольцев с выявленными НЯ. Дополнительные параметры безопасности включали процентное соотношение добровольцев, которые прекратили участие в исследовании, и процентное соотношение добровольцев, которые прекратили участие в исследовании из-за НЯ. Изучение безопасности включало регистрацию НЯ; сбор медицинского анамнеза и регулярное обновление данных в ходе исследования; лабораторные анализы крови и мочи; измерение основных жизненных показателей (АД, ЧСС и температуры тела); физикальное

Таблица 1. Исходная характеристика добровольцев
Table 1. Baseline characteristics of volunteers

Показатель	Группа 1 + группа 2 (n=18)
Женщины / мужчины	11 / 7
Возраст, годы (M±s)	30,4±7,8
Масса тела, кг (M±s)	70,9±8,5
Рост, м (M±s)	1,73±0,07
Индекс массы тела, кг/м ² (M±s)	23,6±1,8

обследование, включая осмотр места введения; электрокардиографию в 12-ти стандартных отведениях. Отдельно оценивалось холинергическое действие исследуемого препарата: влияние на сердечный ритм, артериальное давление, ЦНС и желудочно-кишечный тракт.

Статистический анализ. Выборочные параметры, приводимые в таблицах, имеют следующие обозначения: M — среднее, s — стандартное отклонение, n — объём анализируемой подгруппы, p — достигнутый уровень значимости. Расчёт фармакокинетических параметров осуществлялся с использованием валидированного программного обеспечения Phoenix WinNonLin (Версия 7.0). Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения SPSS Statistics 19.0.

Результаты и их обсуждение

Исходные характеристики добровольцев суммированы в табл. 1.

Фармакокинетика препарата. Базовый эндогенный уровень холина в плазме крови добровольцев до введения препарата в точке –0,5 ч на II этапе исследования составил в среднем 0,734±0,132 мкг/мл. Кинетические кривые концентраций холина в плазме крови после однократного (II этап) и многократного (III этап) внутримышечного введения дихолинсукцината в дозе 200 мг с корректировкой на уровень эндогенного холина представлены на рис. 2.

После однократного внутримышечного введения препарата действующее вещество быстро всасывалось со средней скоростью 0,433±0,381 ч⁻¹. Максимальная концентрация C_{max} в плазме была достигнута через 0,375±0,365 ч и составила 0,990±0,557 мкг/мл с поправкой на базовый уровень холина в плазме. Средние значения k_{el} и $T_{1/2}$ (1,211±1,127 ч⁻¹ и 1,27±1,07 ч соответственно) свидетельствуют о быстрой элиминации холина из кровотока. Площадь под фармакокинетической кривой AUC_{0-t} , основной параметр биодоступности препарата, после корректировки на базовую линию составила 3,549±2,857 мкг·ч/мл.

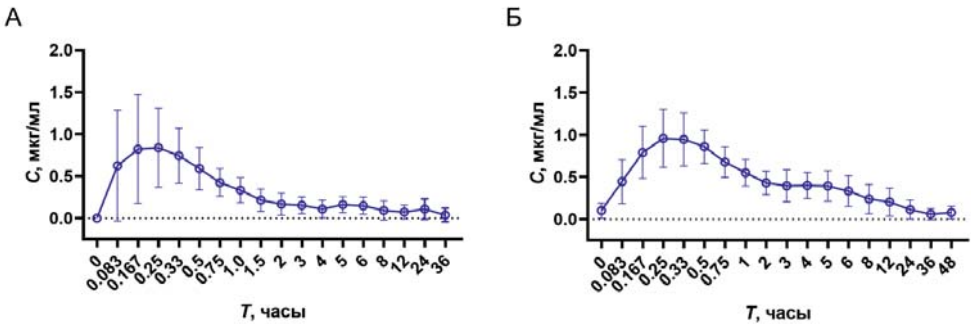


Рис. 2. Кинетические кривые концентраций холина в плазме крови добровольцев: А — после однократного внутримышечного введения дихолинсукцината в дозе 200 мг (II этап); Б — после многократного внутримышечного введения дихолинсукцината в дозе 200 мг (на 7-й день III этапа). M±s (n=12).

Fig. 2. Kinetic curves of choline concentrations in the blood plasma of volunteers: A — after a single intramuscular injection of dicholinesuccinate at a dose of 200 mg (stage II); Б — after repeated intramuscular administration of dicholinesuccinate at a dose of 200 mg (on day 7 of stage III). Mean±SD (n=12).

Фармакокинетические параметры дихолинсукцината (оценка по холину) после однократного внутримышечного введения в дозе 200 мг (II этап) представлены в табл. 2.

Фармакокинетические параметры дихолинсукцината (оценка по холину) в плазме крови добровольцев, получавших ежедневно внутримышечно дихолинсукцинат в дозе 600 мг (3×200 мг с перерывом 8 ч) в течение 7-ми дней, рассчитанные на основе последнего внутримышечного введения в дозе 200 мг (на 7-й день III этапа), представлены в табл. 3.

После многократного внутримышечного введения дихолинсукцината в течение 7-ми дней в дозе 600 мг/сут концентрация вещества в плазме крови в конце интервала дозирования C_{min} составляла $0,103 \pm 0,089$ мкг/мл (интервал — 0,000–0,253 мкг/мл), что свидетельствует об отсутствии накопления холина в кровотоке. Средние значения C_{max} холина после многократного и однократного введений исследуемого препарата ($1,066 \pm 0,331$ и $0,990 \pm 0,557$ мкг/мл соответственно) практически не отличались между собой. Средние значения площади под кривой AUC_{τ} в интервале дозирования ($\tau=8$ ч) после многократного введения препарата составляли $3,324 \pm 1,061$ мкг·ч/мл, что также не отличалось от AUC_{0-t} $3,549 \pm 2,857$ мкг·ч/мл после однократного введения препарата. В совокупности эти результаты свидетельствуют об отсутствии кумуляции дихолинсукцината при многократном введении в дозе 600 мг/сут.

Оценка безопасности. Популяция безопасности в данном исследовании включала всех рандомизированных добровольцев — 18 чел. Все добровольцы завершили исследование в соответствии с Протоколом. Соответственно, процентное соотношение добровольцев, которые прекратили участие в исследовании, составило 0,0%; процентное соотношение добровольцев, которые прекратили участие в исследовании

Таблица 2. Фармакокинетические параметры после однократного внутримышечного введения дихолинсукцината здоровым добровольцам (II этап)
Table 2. Pharmacokinetic parameters after a single intramuscular injection of dicholine succinate in healthy volunteers (stage II)

Параметр	Среднее значение±SD (n=18)
C_{max}^* , мкг/мл	0,990±0,557
TC_{max}^* , ч	0,375±0,365
AUC_{0-t} , мкг·ч/мл	29,213±6,980
$AUC_{0-\infty}$, мкг·ч/мл	3,549±2,857
$AUC_{0-\infty} / AUC_{0-t}$, %	99,97±0,09
C_{max} / AUC_{0-t} , ч ⁻¹	0,433±0,381
K_{el}^* , ч ⁻¹	1,211±1,127
$T_{1/2}^*$, ч	1,271±1,071

Примечание: параметры рассчитаны на основании изменений концентрации холина после введения дихолинсукцината с поправкой на базовый уровень холина в плазме.

Note: the parameters are calculated based on changes in the concentration of choline after administration of dicholine succinate, adjusted for the baseline level of choline in plasma.

Таблица 3. Фармакокинетические параметры дихолинсукцината (оценка по холину) после многократного внутримышечного введения здоровым добровольцам (III этап)
Table 3. Pharmacokinetic parameters of dicholine succinate (estimated by choline) after repeated intramuscular administration in healthy volunteers (stage III).

Параметр	Среднее значение±SD (n=18)
C_{max}^* , мкг/мл	1,066±0,331
TC_{max}^* , ч	0,34±0,103
C_{min}^* , мкг/мл	0,103±0,089
AUC_{τ} ($\tau=8$ ч), мкг·ч/мл	3,324±1,061

Примечание: параметры рассчитаны на основании изменений концентрации холина после введения дихолинсукцината с поправкой на базовый уровень холина в плазме.

Note: the parameters are calculated based on changes in the concentration of choline after administration of dicholine succinate, adjusted for the baseline level of choline in plasma.

из-за нежелательных явлений, составило 0,0%. Для всех добровольцев основные жизненные показатели, результаты физикального осмотра, ЭКГ в 12-ти отведениях, а также значения лабораторных параметров крови

и мочи были в пределах нормы как на этапе скрининга, так и в ходе исследования. Нежелательных явлений у добровольцев популяции безопасности в ходе исследования не зарегистрировано. Доля добровольцев с выявленными нежелательными явлениями, связанными, по мнению исследователя, с применением исследуемого препарата, включая изменения со стороны внутренних органов и систем, лабораторных показателей, изменений ЭКГ, локальные изменения при объективном исследовании за весь период исследования, составила 0,0%. Переносимость препарата была хорошей: признаков гиперемии, отёков и гематом в месте инъекций выявлено не было, жалоб на болезненность, зуд и жжение добровольцы не предъявляли.

Выводы

1. Результаты открытого, с последовательной эскалацией дозы, клинического исследования безопасности, переносимости и фармакокинетики препарата Дирекорд (действующее вещество — ди-

холинсукцинат) у здоровых добровольцев показали, что препарат в дозе 600 мг/сут обладает высоким профилем безопасности и может быть рекомендован для дальнейшего изучения в исследовании с участием пациентов.

2. После однократного внутримышечного введения препарата Дирекорд в дозе 200 мг здоровым добровольцам действующее вещество достигает максимальной концентрации в кровотоке в среднем через 22,5 мин и выводится со средним периодом полувыведения 76 мин.

3. Многократное внутримышечное введение препарата Дирекорд здоровым добровольцам в суточной дозе 600 мг не приводит к кумуляции препарата.

4. У добровольцев популяции безопасности в ходе данного исследования не зарегистрировано нежелательных явлений.

5. Препарат хорошо переносится: признаков гиперемии, отёков и гематом в месте инъекций выявлено не было, жалоб на болезненность, зуд и жжение добровольцы не предъявляли.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Помыткин И.А., Красильникова И.А., Пинелис В.Г., Каркищенко Н.Н. Инсулиновый рецептор в мозге: новая мишень в лечении центральной инсулиновой резистентности. *Биомедицина*. 2018;14(3):17–34. [Pomytkin I.A., Krasil'nikova I.A., Pinelis V.G., Karkischenko N.N. Insulinovyy retseptor v mozge: novaya mishen' v lechenii tsentral'noy insulinovoy rezistentnosti [Insulin signaling system in the brain: New target in the treatment of central insulin resistance]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2018;14(3):17–34. (In Russian)].
2. Abbott M.A., Wells D.G., Fallon J.R. The insulin receptor tyrosine kinase substrate p58/53 and the insulin receptor are components of CNS synapses. *J. Neurosci.* 1999;19(17):7300–7308. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.19-17-07300.1999.
3. Krasil'nikova I., Surin A., Sorokina E., Fisenko A., Boyarkin D., Balyasin M., Demchenko A., Pomytkin I., Pinelis V. Insulin protects cortical neurons against glutamate excitotoxicity. *Front. Neurosci.* 2019;13:1027. DOI: 10.3389/fnins.2019.01027.
4. Pinelis V., Krasilnikova I., Bakaeva Z., Surin A., Boyarkin D., Fisenko A., Krasilnikova O., Pomytkin I. Insulin diminishes superoxide increase in cytosol and mitochondria of cultured cortical neurons treated with toxic glutamate. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(20):12593. DOI: 10.3390/ijms232012593.
5. Pomytkin I., Costa-Nunes J.P., Kasatkin V., Veniaminova E., Demchenko A., Lyundup A., Lesch K.P., Ponomarev E.D., Strekalova T. Insulin receptor in the brain: Mechanisms of activation and the role in the CNS pathology and treatment. *CNS Neurosci. Ther.* 2018;24(9):763–774. DOI: 10.1111/cns.12866.
6. Pomytkin I., Krasil'nikova I., Bakaeva Z., Surin A., Pinelis V. Excitotoxic glutamate causes neuronal insulin resistance by inhibiting insulin receptor/Akt/mTOR pathway. *Mol. Brain*. 2019;12(1):112. DOI: 10.1186/s13041-019-0533-5.
7. Pomytkin I.A., Semenova N.A. Study of the effect of pre-conditioning with succinic acid salt of choline (1:2) on the disturbances of energy metabolism in the brain during ischemia by ^{31}P NMR *in vivo*. *Dokl. Biochem. Biophys.* 2005;403:289–292. DOI: 10.1007/s10628-005-0094-7.
8. Storozheva Z.I., Proshin A.T., Sherstnev V.V., Storozhevskiy T.P., Senilova Y.E., Persiyantseva N.A., Pinelis V.G., Semenova N.A., Zakharova E.I.,

Pomytkin I.A. Dicholine salt of succinic acid, a neuronal insulin sensitizer, ameliorates cognitive deficits in rodent models of normal aging, chronic cerebral hypoperfusion, and beta-amyloid peptide-(25-35)-induced amnesia. *BMC Pharmacol.* 2008;8:1. DOI: 10.1186/1471-2210-8-1.

9. Storozhevykh T.P., Senilova Y.E., Persiyantseva N.A., Pinelis V.G., Pomytkin I.A. Mitochondrial respiratory chain is involved in insulin-stimulated hydrogen peroxide production and plays an integral role in insulin receptor autophosphorylation in neurons. *BMC Neurosci.* 2007;8:84. DOI: 10.1186/1471-2202-8-84.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

Писарев Владимир Викторович, к.х.н., ООО «Научно-производственный центр Пробиотек»;
e-mail: vladimir.pisarev@probiotech.ru

Vladimir V. Pisarev, Cand. Sci. (Chem.), Scientific and Production Center Probiotek;
e-mail: vladimir.pisarev@probiotech.ru

Меркулов Михаил Евгеньевич, ООО «Научно-производственный центр Пробиотек»;
e-mail: mikhail.merkulov@probiotech.ru

Mikhail E. Merkulov, Scientific and Production Center Probiotek;
e-mail: mikhail.merkulov@probiotech.ru

Носков Сергей Михайлович, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: Noskov03@gmail.com

Sergey M. Noskov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Yaroslavl State Medical University of the Ministry of Health Care of the Russia;
e-mail: Noskov03@gmail.com

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

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

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ

Журнал «Биомедицина» принимает для публикации рукописи оригинальных научных работ обзорного, экспериментального и учебно-методического плана, не публиковавшиеся ранее в других изданиях.

Приоритетные области и задачи научных исследований:

- разработка и внедрение новых биомедицинских технологий;
- биологическое, математическое и релевантное моделирование живых систем;
- генетическая, микробиологическая, экологическая стандартизация лабораторных животных в соответствии с рекомендациями GLP и российскими нормативами;
- доклинические, клинические испытания и экспертиза лекарственных и иммунобиологических средств;
- создание ДНК-конструкций и новых методов генетической модификации с целью получения трансгенных, нокаутных и гуманизированных видов животных-моделей;
- проблемы репрезентативности, воспроизводимости и экстраполяции на человека данных, полученных в биомедицинских экспериментах.

С марта 2010 года журнал «Биомедицина» включен в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени доктора наук и ученой степени кандидата наук (Перечень ВАК при Минобрнауки России).

В соответствии с решением ВАК от 15 июня 2017 года № 1-пл/1 (Приложение 2) предпочтение при публикации в журнале имеют научные труды, выполненные по группам специальностей *медико-биологические науки, физиология, клиническая медицина, ветеринария и зоотехния*.

Рубрикация журнала, актуальные разделы, требования к оформлению представляемых рукописей, порядок рецензирования и сроки опубликования работ отражены в Правилах направления, рецензирования и опубликования рукописей научных работ в журнале «Биомедицина».

Во исполнение вышеуказанного решения ВАК при Минобрнауки России учредитель научного журнала «Биомедицина» — ФГБУН НЦБМТ ФМБА России — обеспечивает проверку представляемых к опубликованию рукописей на на-

личие неправомерных заимствований путём получения от авторов и организаций, направляющих рукопись научной работы в редакцию, информации в сопроводительных документах о нижеследующем:

- подтверждают, что работа нигде ранее не была опубликована, не направлялась и не будет направляться для опубликования в другие научные издания;
- гарантируют соблюдение авторских прав;
- несут ответственность за неправомерное использование в научной статье объектов интеллектуальной собственности, объектов авторского права в полном объёме в соответствии с действующим законодательством РФ;
- передают на неограниченный срок учредителю журнала неисключительные права на использование научной статьи путём размещения полнотекстовых сетевых версий номеров на сайте журнала в информационно-телекоммуникационной сети Интернет;
- гарантируют возможность опубликования результатов работы в открытой печати;
- выражают безусловное согласие с правилами подготовки рукописи к изданию, утверждёнными редакцией журнала «Биомедицина», опубликованными и размещёнными на официальном сайте журнала.

В случае обнаружения нарушений данных гарантий и обязательств наступает полное прекращение дальнейшего сотрудничества, а также иная ответственность, предусмотренная законами РФ.

Рукописи, не отвечающие перечисленным требованиям, не рассматриваются и не возвращаются. Редакция оставляет за собой право принимать решение о публикации рукописи, производить редакционные изменения и сокращения, стилистическую правку, а также переносить статью в другой раздел или номер журнала.

За публикацию статей плата не взимается и гонорар не выплачивается. После опубликования статьи авторам высылаются бесплатно один экземпляр журнала.

Полная информация представлена на официальном сайте журнала <http://journal.scbmt.ru> и на сайте ФГБУН НЦБМТ ФМБА России <http://www.scbmt.ru> (раздел “Журнал «Биомедицина»”).

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

ЛАБОРАТОРИЯ № 4 ФГБУН НЦБМТ ФМБА России

Лаборатория фармакогенетики ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (зав. лаб. — Петрова Наталья Владимировна) выполняет задачи генетического контроля при создании и разведении новых трансгенных и нокаутных гуманизированных линий лабораторных мышей-биомodelей, проводит фармакогенетические исследования влияния медицинских средств на организм различных животных (мышей, крыс, мини-пигов и др.) на молекулярном уровне.

В научно-исследовательской работе осуществляется постоянный поиск и оптимизация методических приемов, используются генетические базы иностранных онлайн-библиотек, разрабатываются новые методологические подходы с применением ПЦР-систем в режиме реального времени для заданных генов-мишеней, электрофоретической детекции, секвенирования и т.д. Специалисты лаборатории активно взаимодействуют с научными учреждениями России и коллегами из дружественных стран.

Лаборатория регулярно обеспечивается новым приборным оснащением. Так, за последний месяц введено новое высокотехнологичное оборудование:

- ✓ станция Auto-Pure 96 («Allsheng», КНР) — система для автоматического выделения и очистки нуклеиновых кислот из различных типов биоматериала;
- ✓ система цифровой ПЦР D 600 Digital PCR Analysis System, 4-канальная («Maccura Biotechnology Co.», КНР) — прибор-моноблок, выполняющий в автоматическом режиме все стадии капельной ПЦР.

