

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

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

# БИОМЕДИЦИНА

SCIENTIFIC JOURNAL

JOURNAL BIOMED

Том (Vol.) 20  
2024

1



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

Рады сообщить вам, что согласно итоговому распределению Высшей аттестационной комиссией (ВАК) при Минобрнауки России журналов перечня ВАК по категориям К1, К2, К3 в 2023 году наш журнал отнесен к категории К1.

Кроме того, работы, опубликованные в нашем журнале по направлению «Биотехнология», теперь учитываются при защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата и доктора наук.

Таким образом, для журнала «Биомедицина», входящего в Перечень рецензируемых научных изданий, полный список специальностей и соответствующих им отраслей науки, по которым присуждаются учёные степени, в настоящее время выглядит следующим образом:

1.5.5. Физиология человека и животных  
(биологические и медицинские науки),

1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки),

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология  
(биологические и медицинские науки),

3.3.7. Авиационная, космическая и морская медицина  
(биологические и медицинские науки),

3.1.33. Восстановительная медицина, спортивная медицина,  
лечебная физкультура, курортология и физиотерапия  
(биологические и медицинские науки)

1.5.6. Биотехнология  
(биологические, химические и технические науки)

*С уважением,  
редакция научного журнала «Биомедицина»*

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий  
ФМБА России»

# БИОМЕДИЦИНА

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2005 г.  
4 выпуска в год

---

2024, Том 20, № 1

---

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

# JOURNAL BIOMED

SCIENTIFIC JOURNAL

Published since 2005.  
Quarterly

---

2024, Vol. 20, No. 1

---



# БИОМЕДИЦИНА

---

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)

**Кузнецов Александр Евгеньевич**, д.т.н., проф. (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. (Пушино, 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

<b>История издания журнала:</b>	Журнал издается с 2005 г.
<b>Периодичность:</b>	4 выпуска в год
<b>Префикс DOI:</b>	10.33647
<b>ISSN</b>	2074-5982 (Print) 2713-0428 (Online)
<b>Свидетельство о регистрации СМИ:</b>	Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати. Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС77-21324 от 09.06.2005
<b>Индексация:</b>	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
<b>Подписной индекс:</b>	57995 в объединенном каталоге «Пресса России»
<b>Стоимость одного выпуска:</b>	400 руб.
<b>Условия распространения материалов:</b>	Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License
<b>Учредитель:</b>	ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» 143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, влд. 1
<b>Издатель:</b>	ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» 143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, влд. 1
<b>Редакция:</b>	143442, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, влд. 1 Тел.: +7 (495) 561-52-64 E-mail: <a href="mailto:info@scbmt.ru">info@scbmt.ru</a> , <a href="mailto:scbmt@yandex.ru">scbmt@yandex.ru</a>
<b>Тираж:</b>	3000 экземпляров
<b>Типография:</b>	ООО «БЕАН» 603003, Нижегородская обл., Нижний Новгород, ул. Баррикад, д. 1
<b>Дата выхода в свет:</b>	10.03.2024

---

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.), Acad. 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)

**Aleksandr E. Kuznetsov**, Dr. Sci. (Tech.), Prof. (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. Okovityy**, 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., Acad. 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

Biomeditsina

<b>Founded:</b>	The journal has been published since 2005.
<b>Frequency:</b>	Quarterly
<b>DOI Prefix:</b>	10.33647
<b>ISSN</b>	2074-5982 (Print) 2713-0428 (Online)
<b>Mass media registration certificate:</b>	Registered at the State Committee of the Russian Federation on Press under the number ПИ № ФС77-21324 of 09.06.2005
<b>Indexing:</b>	The Journal is included into the Higher Attestation Commission (HAC) list of periodicals (the list of leading per-reviewed scientific journals recommended for publishing the basic research results of doctor and candidate theses)
<b>Subscription index:</b>	57995 in the combined catalogue "Pressa Rossii"
<b>Price:</b>	400 RUR
<b>Content distribution terms:</b>	Content is distributed under Creative Commons Attribution 4.0 License
<b>Founders:</b>	Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia 143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye gory Village, 1
<b>Publisher:</b>	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
<b>Editorial office:</b>	143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye gory Village, 1 Tel.: +7 (495) 561-52-64 E-mail: <a href="mailto:info@scbmt.ru">info@scbmt.ru</a> , <a href="mailto:scbmt@yandex.ru">scbmt@yandex.ru</a>
<b>Circulation:</b>	3000 copies
<b>Printing house:</b>	BEAN, LLC. 603003, Russian Federation, Nizhny Novgorod Region, Nizhny Novgorod, Barrikad Street, 1
<b>Publication date:</b>	10.03.2024



■ МЕТОДЫ И ТЕХНОЛОГИИ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Н.Н. Каркищенко, В.Н. Лазарев, В.А. Манувера, П.А. Бобровский,  
Н.В. Петрова, Е.М. Колоскова, Е.С. Глотова**

Принципы создания генно-инженерной конструкции для получения гуманизированных трансгенных мышей, несущих ген *HLA-C\*07:02:01:01*, как прообраз инновационных трансгенно-нокаутных биомоделей . . . . . 8

**Н.С. Огнева, М.С. Нестеров, Д.В. Хвостов, Ю.В. Фокин, В.Н. Каркищенко**

Сравнительное изучение фармакокинетики пептидного препарата «Лейтрагин» в сыворотке крови и ткани лёгкого мышей линии C57BL/6Y после однократного ингаляционного введения . . . . . 21

**А.В. Шарабанов, Е.Г. Батоцыренова, В.А. Кашуро, М.Т. Гасанов,  
Н.В. Кузьмина, К.М. Щепеткова**

Модифицированный эффект пептидных препаратов на спонтанную двигательную активность самцов крыс в условиях светового десинхроноза . . . . . 33

**А.А. Бондаренко, Т.Л. Горчакова, А.Я. Беспалов, Л.И. Прокопенко, П.Д. Шабанов**

Фармакологический скрининг препаратов холинергического типа действия с использованием биологического тест-объекта – зоогидробионтов *Daphnia magna Straus* . . . . . 43

■ ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОМЕДИЦИНЕ

**А.Ю. Жариков, С.О. Филинова, О.Н. Мазко, И.П. Бобров,  
О.Г. Макарова, А.С. Кальницкий**

Влияние карнозина на оксидативное повреждение почек при экспериментальном сахарном диабете . . . . . 52

**М.У. Сергалиева, А.А. Цибизова, М.А. Самотруева**

Влияние глипролинов на перекисное окисление липидов и белков в гипоталамической области в условиях экспериментального гипертиреоза . . . . . 62

## ■ METHODS AND TECHNOLOGIES OF BIOMEDICAL RESEARCH

- Nikolay N. Karkischenko, Vassili N. Lazarev, Valentin A. Manuvera, Pavel A. Bobrovsky, Natalia V. Petrova, Elena M. Koloskova, Elena S. Glotova**  
Principles of Creation of a Genetic Engineering Construction  
for Obtaining Humanized Transgenic Mice with *HLA-C\*07:02:01:01*,  
as a Promote of Innovative Transgenic and Knockout Biomodels. . . . . 8
- Nastasya S. Ogneva, Maxim S. Nesterov, Daniil V. Khvostov, Yuriy V. Fokin, Vladislav N. Karkischenko**  
Comparative Pharmacokinetics Study of the Leutragin Peptide Drug in Blood Serum and Lung  
Tissue in C57BL/6Y Mice after a Single Inhalation Administration . . . . . 21
- Andrey V. Sharabanov, Ekaterina G. Batotsyrenova, Vadim A. Kashuro, Melik T. Gasanov, Natalya V. Kuzmina, Kristina M. Shchepetkova**  
Modified Effect of Peptide Preparations on Spontaneous Motor Activity of Male Rats  
under Conditions of Light Desynchronization . . . . . 33
- Anastasiya A. Bondarenko, Tat'jana L. Gorchakova, Aleksandr Ya. Bepalov, Ljubov' I. Prokopenko, Petr D. Shabanov**  
Pharmacological Screening of Cholinergic Drugs' using *Daphnia magna Straus*  
Hydrobionts as a Biological Test Object . . . . . 43
- ## ■ PRECLINICAL RESEARCH IN BIOMEDICINE
- Alexander Yu. Zharikov, Svetlana O. Filinova, Olesya N. Mazko, Igor P. Bobrov, Olesya G. Makarova, Artem S. Kalnitsky**  
Effect of Carnosine on Oxidative Damage to the Kidneys  
in Experimental Diabetes Mellitus . . . . . 52
- Mariyam U. Sergalieva, Aleksandra A. Tsibizova, Marina A. Samotrueva**  
Effects of Glyprolins on Lipid and Protein Peroxidation  
in the Hypothalamic Region in Experimental Hyperthyroidism . . . . . 62

## ПРИНЦИПЫ СОЗДАНИЯ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ГУМАНИЗИРОВАННЫХ ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ, НЕСУЩИХ ГЕН *HLA-C\*07:02:01:01*, КАК ПРООБРАЗ ИННОВАЦИОННЫХ ТРАНСГЕННО-НОКАУТНЫХ БИМОДЕЛЕЙ

Н.Н. Каркищенко<sup>1</sup>, В.Н. Лазарев<sup>2</sup>, В.А. Манувера<sup>2</sup>, П.А. Бобровский<sup>2</sup>,  
Н.В. Петрова<sup>1,\*</sup>, Е.М. Колоскова<sup>3</sup>, Е.С. Глотова<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины  
имени академика Ю.М. Лопухина ФМБА России»  
119435, Российская Федерация, Москва, Малая Пироговская ул., 1а

<sup>3</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных –  
филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»  
249013, Российская Федерация, Калужская обл., Боровск, п. Институт

Генетические отличия у представителей разных популяций оказывают влияние на механизм и эффективность лекарственных препаратов. Биомодели, учитывающие особенности генетического полиморфизма разных людей, позволяют полнее исследовать молекулярно-генетические механизмы действия фармакологических средств, включая иммунобиологические. Была создана рекомбинантная ДНК, кодирующая гибридный белок класса I МНС, содержащий В2-микроглобулин человека, слитый с антигенпрезентирующими доменами ( $\alpha 1$ - и  $\alpha 2$ -домены) молекулы *HLA-C\*07:02:01:01*, и  $\alpha 3$ -домен H2-комплекса мыши. Очищенный линейаризованный фрагмент ДНК, содержащий целевую конструкцию, фланкированный регуляторными фрагментами, обеспечивающими его стабильную транскрипцию, использован для получения новой линии гуманизированных трансгенных мышей. Принципы конструирования гуманизированных трансгенных мышей путем кодирования химерного белка МНС класса I, содержащего антигенпрезентирующие домены *HLA-C\*07:02:01:01*, аналогичны таковым при получении мышей гуманизированных трансгенных линий *HLA-A\*02:01:01:01* и *HLA-B\*18:01:01:02*. Данные трансгенные линии лабораторных мышей являются самостоятельными биомоделями, а также используются в качестве базовых линий для получения на их основе соответствующих трансгенно-нокаутных линий.

**Ключевые слова:** генетическая конструкция, *HLA-C\*07:02:01:01*, трансгеноз, гуманизированные трансгенные мыши

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

**Финансирование:** работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН НЦБМТ ФМБА России по теме «Получение новой линии гуманизированных трансгенных мышей, несущих ген *HLA-A\*pX* человека и нокаут комплекса H-2K мыши» (шифр: «Транснокаут-2024»).

**Для цитирования:** Каркищенко Н.Н., Лазарев В.Н., Манувера В.А., Бобровский П.А., Петрова Н.В., Колоскова Е.М., Глотова Е.С. Принципы создания генно-инженерной конструкции для получения гуманизированных трансгенных мышей, несущих ген *HLA-C\*07:02:01:01*, как прообраз инновационных трансгенно-нокаутных биомоделей. *Биомедицина*. 2024;20(1):8–20. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-8-20>

Поступила 15.01.2024

Принята после доработки 12.02.2024

Опубликована 10.03.2024



# PRINCIPLES OF CREATION OF A GENETIC ENGINEERING CONSTRUCTION FOR OBTAINING HUMANIZED TRANSGENIC MICE WITH *HLA-C\*07:02:01:01*, AS A PROMOTE OF INNOVATIVE TRANSGENIC AND KNOCKOUT BIOMODELS

Nikolay N. Karkischenko<sup>1</sup>, Vassili N. Lazarev<sup>2</sup>, Valentin A. Manuvera<sup>2</sup>,  
Pavel A. Bobrovsky<sup>2</sup>, Natalia V. Petrova<sup>1,\*</sup>, Elena M. Koloskova<sup>3</sup>, Elena S. Glotova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia  
143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye gory Village, 1

<sup>2</sup> Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of the Federal Medical  
and Biological Agency of Russia  
119435, Russian Federation, Moscow, Malaya Pirogovskaya Str., 1a

<sup>3</sup> All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition — branch of the Federal  
Scientific Centre of Animal Husbandry — All-Russian Institute of Animal Husbandry named after acad. L.K. Ernst  
249013, Russian Federation, Kaluga Region, Borovsk, Institut Village

Genetic differences in different populations influence the mechanism and efficacy of drugs. Biomodels that take into account the peculiarities of genetic polymorphism in different individuals allow to more fully investigate the molecular-genetic mechanisms of action of pharmacological agents, including immunobiological ones. Recombinant DNA encoding a hybrid MHC class I protein containing human  $\beta 2$ -microglobulin fused with antigen-presenting domains ( $\alpha 1$  and  $\alpha 2$  domains) of the *HLA-C\*07:02:01:01* molecule and  $\alpha 3$  domain of the mouse H2-complex was created. The purified linearized DNA fragment containing the target construct flanked by regulatory fragments ensuring its stable transcription was used to obtain a new line of humanized transgenic mice. The principles of designing humanized transgenic mice by encoding a chimeric MHC class I protein containing antigen-presenting domains *HLA-C\*07:02:01:01* are similar to those for obtaining mice of the *HLA-A\*02:01:01* and *HLA-B\*18:01:01:02* humanized transgenic lines. These transgenic lines of laboratory mice are independent biomodels, and also be used as baselines for obtaining corresponding transgenic and knockout lines.

**Keywords:** genetic design, *HLA-C\*07:02:01:01*, transgenesis, humanized transgenic mice

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

**Funding:** the article was carried out within the framework of the state assignment of the Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia on the topic “Obtaining a new line of humanized transgenic mice carrying the human *HLA-A\*pX* gene and knockout of the mouse H-2K complex” (code: “Transknockout-2024”).

**For citation:** Karkischenko N.N., Lazarev V.N., Manuvera V.A., Bobrovsky P.A., Petrova N.V., Koloskova E.M., Glotova E.S. Principles of Creation of a Genetic Engineering Construction for Obtaining Humanized Transgenic Mice with *HLA-C\*07:02:01:01*, as a Promote of Innovative Transgenic and Knockout Biomodels. *Journal Biomed.* 2024;20(1):8–20. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-8-20>

Submitted 15.01.2024

Revised 12.02.2024

Published 10.03.2024

## Введение

Генетические отличия между этническими группами определяются полиморфизмом генов в человеческих популяциях по всему многообразию ферментативных и метаболических систем, в связи с чем

возникают проблемы в возможностях применения одних и тех же препаратов и стратегий для лечения разных групп населения. Возникает острая необходимость введения новых норм по разработке и тестированию лекарственных препаратов с учетом

генетических особенностей как отдельных индивидуумов (персонализированная медицина), так и этнических групп (этническая фармакология) [2, 11, 13, 17]. Целенаправленное создание соответствующих животных биомоделей, в первую очередь гуманизированных мышей, в геном которых искусственно встроены один или несколько генов человека, позволяет быстро и надежно провести фармакологическую оценку исследуемых препаратов [2, 4, 6, 20]. Определение спектра генов, наиболее типичных для представителей разных этнических групп, в частности, самых крупных этносов многонациональной Российской Федерации, создание трансгенных гуманизированных животных-моделей, несущих соответствующие гены, является важнейшим этапом для выяснения особенностей генетических и эпигенетических механизмов патологических процессов и эффективности разрабатываемых лекарственных препаратов.

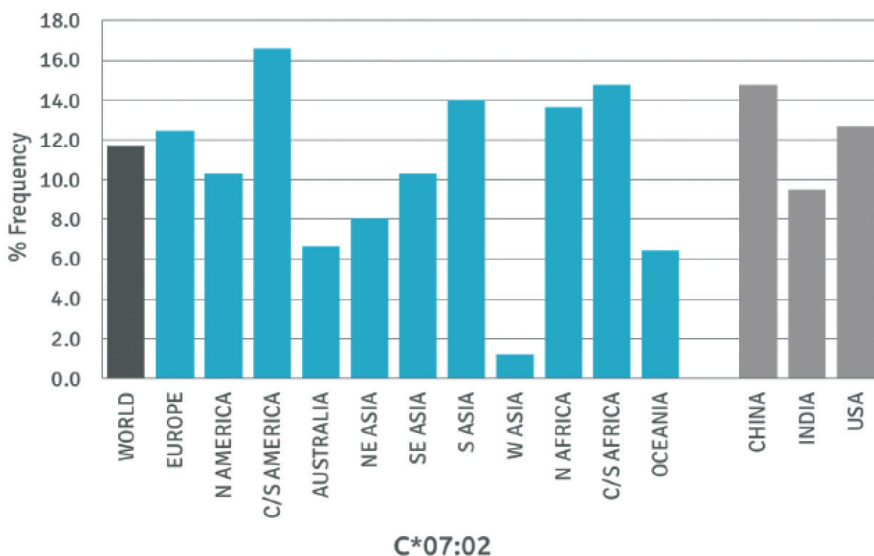
В НЦБМТ ФМБА России на протяжении 10 лет ведётся разработка гуманизированных биомоделей, а также поддерживаются уже созданные различные модели социально значимых заболеваний. В 2021 году мы создали полную гибридную ДНК-конструкцию с геном человека *HLA-A\*02:01:01:01* [3]: выбор аллеля был обусловлен наибольшей частотой встречаемости у населения русской национальности *HLA-A\*02:01:01:01*. Методом микроинъекций гибридной конструкции (ГК) в пронуклеус зигот были получены родоначальники новой гуманизированной трансгенной линии мышей-биомоделей, несущих ген *HLA-A\*02:01:01:01* [10]. По результатам селекционно-генетической работы с полученными трансгенными животными были определены три наиболее перспективные сублинии [5].

В данной работе рассматривается процесс разработки ГК, несущей фрагмент гена *HLA-C\*07:02:01:01*, кодирующий

антигенпрезентирующие домены белка, для получения новой линии биомодели гуманизированных мышей. Выбор гена обусловлен статистикой распределения аллелей генов иммунного ответа среди населения нашей страны.

Несмотря на то, что гены *HLA* являются самыми полиморфными в геноме человека, *HLA*-аллели стабильны для популяций и сохраняются в ряду поколений. Знание частот встречаемости *HLA*-гаплотипов в популяциях необходимо для обнаружения подходящих доноров в различных популяционных генетических исследованиях и для изучения предрасположенности к заболеваниям среди населения. Частота встречаемости аллеля *HLA-C\*07:02* у населения разных регионов мира представлена на рис. 1.

Распределение аллелей гена *HLA-C* у доноров костного мозга из регистра ФГБУ ГНЦ Минздрава России, самоопределившихся как русские, соответствуют таковому в большинстве европейских популяций. Наиболее частотным в группе московских доноров является аллель *HLA-C\*07:02* (выявлен у 13,2%) [8]. Типирование на уровне второго поля (например, *HLA-C\*07:02*) выявляет группу аллелей, кодирующих одинаковую аминокислотную последовательность пептидсвязывающих доменов. Типирование на уровне третьего поля (*HLA-C\*07:02:01*) определяет группу аллелей, кодирующих одинаковую нуклеотидную последовательность всех экзонов гена *HLA*, типирование же на уровне четвертого поля позволяет определить конкретный аллель *HLA*-гена с нуклеотидными заменами не только в кодирующих, но и некодирующих регионах гена *HLA*. Для русской популяции (657 доноров Нижегородской области) были получены результаты на уровне четвертого поля по *HLA*-генам класса I. Установлены наиболее высокочастотные *HLA*-аллели: для гена *HLA-A* — это *A\*02:01:01:01* (26,9%), для *HLA-B* — *B\*07:02:01:01* (12,5%), для *HLA-C* — *C\*07:02:01:03* (12,6%) [15].



**Рис. 1.** Встречаемость аллеля *C\*07:02* в разных регионах мира.  
**Fig. 1.** Occurrence of the *C\*07:02* allele in different regions of the world.

Полученные данные имеют значение:

- при оценке генетически детерминированной функциональной активности естественных клеток-киллеров (Natural Killer – *NK*) в исследовании их связи с разными заболеваниями и в вопросах взаимодействия между иммунной системой и репродукцией: в регуляции активности *NK*-клеток организма очень велика роль взаимодействия между иммуноглобулинподобными рецепторами (*KIR*) *NK*-клеток и их *HLA*-лигандами – некоторыми антигенами *HLA* I класса. Связывание *HLA*-лигандов с ингибирующими *KIR*-рецепторами (*iKIR*) приводит к подавлению функциональной активности *NK*-клеток, взаимодействие с активирующими *KIR*-рецепторами (*aKIR*) усиливает функциональную активность *NK*. *KIR* и *HLA* системы эволюционировали совместно, и репертуар *KIR* оказывает давление на баланс *HLA*-гаплотипов [19]. Полиморфизм *KIR*-генов и сочетания *KIR*-*HLA* являются важным иммуногенетическим фактором, играющим существенную роль в предрасположенности и/или резис-

- стентности к инфекционным, аутоиммунным и онкологическим заболеваниям;
- при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) от неродственного или гаплоидентичного родственного донора;
- при изучении специфического иммунного ответа на инфекцию, вызванную COVID-19: некоторые генотипы *HLA* класса I могут быть связаны с критическим течением болезни [12, 22];
- в контроле течения ВИЧ-инфекции: в комплексе *HLA* обнаружены значимые полиморфизмы, связанные с уровнем вирусной нагрузки [14];
- при проведении антропологических исследований и при изучении ассоциаций *HLA*-генов с прочими социально значимыми заболеваниями.

Новая линия гуманизированных трансгенных мышей может быть использована для решения широкого круга задач, включая исследования инфекционных заболеваний, разработку и тестирование вакцин, тестирование безопасности и иммуногенности,



а также для исследований, направленных на изучение онкологических и аутоиммунных заболеваний. Данная модель позволит идентифицировать эпитопы, ограниченные супертипом *HLA-C\*07:02*.

## Материалы и методы

### Получение первичного биоматериала

Для проведения *HLA*-типирования первичный материал (плазма крови донора с *HLA-C\*07:02:01:01*) были любезно предоставлены сотрудниками лаборатории трансплантационной иммунологии ФГБУ «НИИЦ гематологии», которым авторы выражают глубокую благодарность. В процессе отбора доноров плазмы учитывались как фенотипические характеристики (отсутствие эпикантуса и пр.), так и генотипические маркеры, а также генеалогия человека.

### Бактериальные штаммы и клеточные линии

В работе использовали штамм *E. coli* TOP10 («Invitrogen», США), генотип F-mcrA Δ(mrr-hsdRMS-mcrBC) φ80lacZΔM15 ΔlacX74 nupG recA1 araD139 Δ(ara-leu)7697 galE15 galK16 rpsL(Str<sup>R</sup>) endA1 λ-. В работе использовали клеточную линию HEK-293FT («Thermo Fisher Scientific», США), C2C12 («ATCC», США).

### Плазмидные векторы

В работе были использованы плазмидные векторы pCDNA3.4 («Thermo Fisher Scientific», США), pX330-U6-Chimeric\_BB-CBh-hSpCas9 (Addgene #42230).

Список и последовательности использованных в работе праймеров приведены в табл. 1.

## Результаты и их обсуждение

### Дизайн гибридных ДНК-конструкций, включающих нуклеотидные последовательности β2-микροглобулина человека, α1- и α2-доменов МНС человека (*HLA*) и α3-домена МНС мыши

Для получения структурной части рекомбинантного гена было амплифицировано три ДНК-фрагмента:

1. Фрагмент гена β2-микροглобулина человека получали с ПЦР-амплификацией с парой праймеров b2mF/b2mR. В качестве матрицы использовали кДНК библиотеки, полученной из клеток линии HEK293 с применением гексамерных праймеров;

2. Фрагмент структурной части гена *HLA-C*, соответствующий антигенпрезентирующим доменам α1, α2, получали с использованием пары праймеров 07F/07R и синтетической конструкции гена *HLA-C\*07:02:01:01* («Евроген», Россия);

3. Фрагмент гена МНС, соответствующий домену α3 мышинного комплекса гистосовместимости, получали с применением пары праймеров H2F-07/H2R и кДНК библиотеки, полученной из клеток коммерчески доступной линии мышинных миобластов C2C12 с использованием гексамерных праймеров.

Для сборки структурного гена 5 нг каждого из выделенных на этом этапе фраг-

Таблица 1. Олигонуклеотиды, использованные в работе  
Table 1. Oligonucleotides used in the work

Праймер	5'-3'- последовательность	Введенный сайт
b2mF	GTCTAGAGCCACCATGTCTCGTCCGTGGCCTTAG	XbaI
b2mR	ACCTCATGCTGTGAGAGCATCCACCACCAGAGCCTCCA	Линкер
07F	TGGAGGCTCTGGTGGTGGATGCTCTCACAGCATGAGGT	Линкер
07R	CACATGAGCCTTTGGGAATCGGCTCTCTGCAGTGTCTC	
H2F-07	GAGACACTGCAGAGAGCCGATTCCCCAAAGGCTCATGTG	
H2R	ACCAAGCTTCACGCTAGAGAATGAGGGT	HindIII
cbhF	TTGACTAGTCCGTACATAACTTACGGTAAATGG	SpeI
cbhR	GCTCTAGAACCTGAAAAAAGTGATTTACAGGCAGGTG	XbaI

ментов смешивали, добавляли ПЦР-смесь для полимеразы PhusionHigh-Fidelity DNA Polymerase (“Thermo Fisher Scientific”, США), за исключением праймеров.

### Программа амплификации

Применяли двухступенчатую амплификацию:

1. Первичная денатурация 2 мин при 95°C, 10 циклов в режиме: 98°C – 10 с, 60°C – 10 с, 72°C – 60 с.

2. В реакционную смесь вносили концевые праймеры b2mF/H2R и проводили еще 20 циклов ПЦР в том же режиме.

Полученный ПЦР-ампликон (содержит ген β-микроглобулина человека, соединенный через глицин-сериновый линкер с кодирующими последовательностями α1-, α2-доменов *HLA-C\*07:02:01:01* и α3-домена мышинового комплекса H-2K) клонировали в плазмиду pcDNA3.4 после предварительной обработки обоих компонентов эндонуклеазами рестрикции XbaI и HindIII: была получена промежуточная плаزمиды pcDNA3.4/b2m-C0702-h2k.

С использованием пары праймеров cbhF/cbhR и плазмиды pX330-U6-Chimeric\_BB-CVh-hSpCas9, использованной в качестве матрицы, амплифицировали ДНК-фрагмент, соответствующий СВН-промотору (CMV-энхансер/промотор β-актина цыплят). ПЦР-ампликон и pcDNA3.4/b2m-C0702-h2k были обработаны рестриктазами SpeI и XbaI, при этом из плазмиды pcDNA3.4/b2m-C0702-h2k был удален исходный CMV-промотор. После лигирования была получена плаزمиды, содержащая генетическую последовательность, кодирующую гибридную молекулу комплекса гистосовместимости первого класса, фланкированную СВН-промотором и WPRE-TK-PolyA терминирующим фрагментом, изначально входящим в состав плазмиды pcDNA3.4. Полученную плазмиду назвали pСВН-b2m-C0702-h2k (рис. 2).

С целью получения линейного фрагмента ДНК генной конструкции, пред-

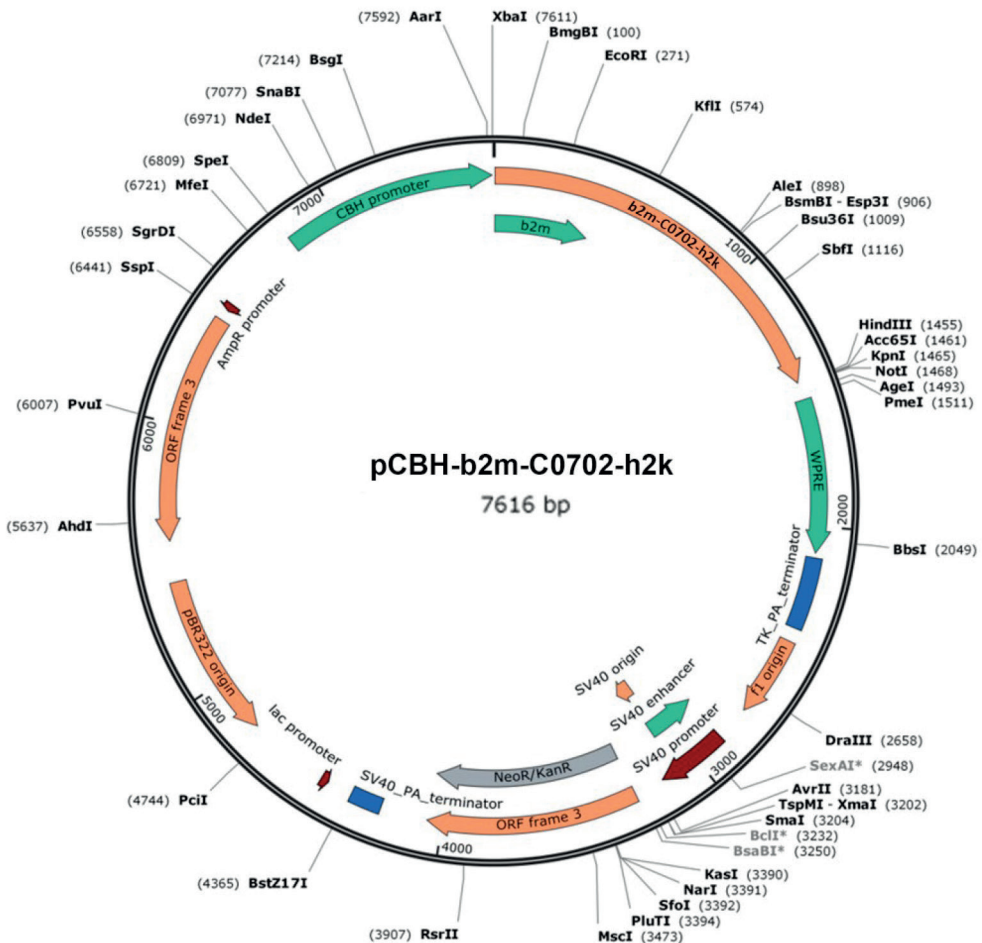
назначенной для микроинъекции, плазмиду pСВН-b2m-C0702-h2k расщепляли эндонуклеазами рестрикции BgIII и SalI. Продукты реакции разделяли с помощью электрофореза в 0,8% агарозном геле. Полосу, соответствующую по подвижности ДНК-фрагменту размером 3181 п.н., вырезали и выделяли из геля с помощью набора GeneJETGelExtractionKit (“Thermo Fisher Scientific”, США). Концентрацию ДНК в конечном растворе определяли с помощью флуориметра Qubit (“Thermo Fisher Scientific”, США). Схема полученной линейаризированной генной конструкции приведена на рис. 3, размеры и описание ее фрагментов – в табл. 2.

Ранее нами были детально описаны и охарактеризованы структурные фрагменты подобной генной конструкции – СВН-b2m-A0201-h2k [3], кодирующие гибридный HLA-A\*02:01:01-H2 белок, слитый с β2-микроглобулином человека. Данная работа дополнена обоснованием выбора промотора, общего для обеих генетических конструкций – первой (СВН-b2m-A0201-h2k) и второй (СВН-b2m-C0702-h2k).

Полученная тем или иным способом структурная часть гена (трансгена), ГК содержит информацию о структуре белка, но сама не может ее реализовать: нужны дополнительные механизмы для управления действием гена – структурные элементы – промоторы, терминаторы и энхансеры.

**Промотор** необходим для инициации и контроля транскрипции гена, определяет тканеспецифичность экспрессии белка. **Терминатор** отвечает за прекращение транскрипции, **энхансеры** (могут находиться в любой части генома) — последовательности ДНК, усиливающие транскрипцию при взаимодействии со специфическими белками.

Выбор промотора при создании трансгенных конструкций имеет особое значение: сильный промотор инициирует синтез мРНК часто, слабый — гораздо реже.



**Рис. 2.** Схема плазмиды pCBH-b2m-c0702-h2k, полученной на основе плазмиды-вектора pcDNA3.4.

**Примечание:** плазмида содержит СВН-промотор, ген  $\beta 2$ -микроглобулина человека, соединенный последовательностью, кодирующей глицин-сериновый линкер, с последовательностью  $\alpha 1$   $\alpha 2$ -доменов молекулы HLA-C\*07:02 и  $\alpha 3$ -домена молекулы H2K<sup>k</sup>, посттрансляционный регуляторный элемент WPRE и сигнал полиаденилирования ТК ПА. ДНК-последовательность CMV-промотора плазмиды pcDNA3.4 была заменена последовательностью СВН-промотора, амплифицированного с плазмиды pX330-U6-Chimeric\_BB-CBh-hSpCas9. Красными стрелками указаны сайты рестрикции для вырезания линейного фрагмента СВH-b2m-C0702-h2k.

**Fig. 2.** Diagram of the pcpb-g2m-c0702-h2k plasmid obtained on the basis of the plasmid vector pcDNA3.4.

**Note:** the plasmid contains a CBH promoter; a human  $\beta 2$  microglobulin gene connected by a sequence encoding a glycine-serine linker with a sequence of  $\alpha 1$ - $\alpha 2$  domains of the HLA-C\*07:02 molecule and  $\alpha 3$  domains of the H2K<sup>k</sup> molecule, a posttranslational regulatory element WPRE and a polyadenylation signal TK PA. The DNA sequence of the CMV-promoter of the plasmid psDNA3.4 was replaced by the sequence of the CBH-promoter amplified from the plasmid pX330-U6-Chimeric\_BB-CBh-hSpCas9. The red arrows indicate the restriction sites for cutting out the linear fragment CBH-b2m-C0702-h2k.

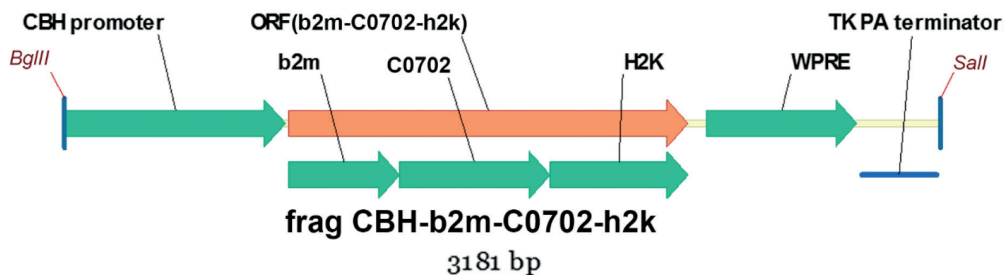


Рис. 3. Схема линейного фрагмента CBH-b2m-C0702-h2k ДНК, предназначенной для микроинъекций.

**Примечание:** линейный фрагмент содержит CBH-промотор, структурную часть гена  $\beta 2m$  человека, соединенную глицин-сериновым линкером с  $\alpha 1$ -доменом молекулы HLA-C\*07:02:01:01,  $\alpha 2$ -домен этой же молекулы HLA,  $\alpha 3$ -домен молекулы H-2K, посттрансляционный регуляторный элемент WPRE и сигнал полиаденилирования TK PA.

Fig. 3. Scheme of a linear fragment of frag CBH-b2m-C0702-h2k DNA intended for microinjection.

**Note:** the linear fragment contains the CBH promoter, the structural part of the human  $\beta 2m$  gene, linked by a glycine-serine linker with the  $\alpha 1$  domain of the HLA-C\*07:02:01:01 molecule,  $\alpha 2$  domain of the same HLA molecule, the  $\alpha 3$  domain of the H-2K molecule, post-translational regulatory WPRE element and TK PA polyadenylation signal.

Таблица 2. Структура генной конструкции CBH-b2m-C0702-h2k

Table 2. Structure of the gene construct CBH-b2m-C0702-h2k

Фрагмент	Размер, п.н.	Описание
CBH-b2m-C0702-h2k	3181	Генная конструкция
CBH	796	Промотор
$\beta 2m$ человека	357	$\beta 2m$ -микроглобулин человека
Экзон 1	67	
Экзон 2	279	
Экзон 3 (до TAA)	11	
Линкер (Гли4Сер1) x3	45	Линкер
Фрагмент HLA C0702	540	Фрагмент МНС I класса человека (домены $\alpha 1$ , $\alpha 2$ )
Фрагмент h2k	501	Фрагмент МНС I класса мыши
mEx4	276	Домен $\alpha 3$ H-2K
mEx5	120	Трансмембранный фрагмент белка
mEx6	33	
mEx7	39	
mEx8	32	Некодирующий экзон, нетранспируемая область
wPRE	676	Посттрансляционный регуляторный элемент
tK-PA-terminator	271	Сигнал полиаденилирования

Для экспрессии продукта в клетках эукариот может быть использован как промотор, характерный для собственных генов организмов, найденный в геноме, так и промотор вирусов, заражающих данный организм. Наиболее часто используемым промотором в составе генетических конструкций является промотор ранних генов цитомегаловируса CMV, обладающий вы-

сокой активностью в различных клетках и тканях. Существенным недостатком CMV и других универсальных вирусных промоторов является высокая подверженность метилированию в клетках млекопитающих и, вследствие этого, инактивация при интеграции трансгена в геном [23]. Вероятно, это один из механизмов противовирусной защиты человека. В некоторых случаях выявляется

интенсивный иммунологический ответ на трансгены с CMV-промотором, иногда трансген экспрессируется не во всех тканях. Так, при получении мышей с ГК, содержащей промотор CMV, трансген не экспрессировался в легких, печени, поджелудочной железе и мышечной ткани [7].

Для стимулирования экспрессии в большинстве тканей наряду с CMV широко используют и другие конститутивные промоторы, такие как промоторы 1 $\alpha$ -субъединицы фактора элонгации человека (EF1 $\alpha$ ),  $\beta$ -глобурина (GUSB) или убиквитина C (UBC),  $\beta$ -актина курицы (CBA). Введение в промотор *CMV-энхансера* усиливает экспрессию трансгена [21]. У CAG (синтетический промотор, содержащий ранний энхансер CMV, промотор  $\beta$ -актина курицы и химерный интрон  $\beta$ -актина курицы и  $\beta$ -глобулина кролика) в экспериментах транскрипционная активность была выше, чем у CMV [24]. Он был использован в одной из экспрессионных кассет (SEQ ID NO:2), предназначенных для вакцинации против вируса SARS-CoV-2 (Спутник V) [1]. Векторы с CAG обеспечивали долгосрочную экспрессию трансгенов во время дифференцировки стволовых клеток в мезодерму по сравнению с CMV и CBA промоторами [16]. Другая гибридная форма промотора CMV-CBA (CBh), включающая гибридный интрон (5'UTR CBA), и мышиного Minute virus (3'UTR MVM) давала устойчивую долговременную экспрессию во всех клетках [18, 21].

Для создания ГК с HLA нами был выбран *СВН-промотор*: широко используемая в CRISPR/Cas9 технологии плаزمида рX330-U6-ChimericBB-CBh-hSpCas9 содержит СВН-промотор, обеспечивающий высокоэффективную транскрипцию эндонуклеазы Cas9 в клетках эукариот. Промотор включает в себя ранний энхансер CMV (286 п.н., делеция 18 п.н. по сравнению с CMV-энхансером), CBA-промотор (257 п.н., делеция 19 п.н. по сравнению

со стандартным промотором) и гибридный интрон (228 п.н., гибрид CBA- и MVM-интронов) [18]. Использование СВН-промотора в составе ГК позволяет предположить эффективную экспрессию трансгена во всех органах и тканях полученных с его использованием трансгенных животных.

## Заключение

Число потребителей генно-модифицированных животных (ГМЖ) (трансгенных, нокаутных, гуманизированных) – в первую очередь, мышей и крыс – неуклонно растет. Развитие отечественных лабораторий по производству ГМЖ открывает широкие возможности для создания биомоделей, отвечающих задачам конкретного исследования, а отсутствие карантина позволяет получать мышей в существенно более короткий срок и значительно снижает их себестоимость по сравнению с животными, приобретаемыми за рубежом.

ФГБУН НЦБМТ ФМБА России уже на протяжении 10 лет создает гуманизированных мышей-биомоделей для оценки метаболизма и эффективности лекарственных препаратов, разработки оптимальных способов исследования и лечения социально-значимых болезней человека [2, 3, 6].

Проведенная работа иллюстрирует процесс создания генно-инженерной конструкции, кодирующей гибридный белок MHC I класса, состоящий из антигенпрезентирующих  $\alpha 1$ -,  $\alpha 2$ -доменов *HLA-C\*07:02:01:01*,  $\alpha 3$ -домена H-2K<sup>k</sup> мыши и стабилизированный  $\beta 2$ -микроглобулином человека, соединенным гибким глицин-сериновым линкером с  $\alpha 1$ -доменом. Генетическая конструкция использована для получения новой линии гуманизированных трансгенных мышей, несущих *HLA-C\*07:02:01:01*. Принципы конструирования данной трансгенной линии лабораторных мышей стали базовой основой и используются для получения новых линий гуманизированных трансгенно-нокаутных животных,



несущих гаплотипы доноров человека *HLA-A\*02:01:01:01*, *HLA-B\*07:02:01:01*, *HLA-B\*18:01:01:02* и *HLA-C\*07:02:01:01* из регистра ФГБУ «НМИЦ гематологии», самоопределившихся как русские [9].

Создание широкой серии линий гуманизированных мышей с наиболее широко представленными вариантами *HLA* класса I для населения РФ позволит вплотную подойти как к популяционной, так и персонализированной медицине, эффективно решать такие задачи, как разработка и тестирование вакцин, анализ безопасности

и иммуногенности, изучение инфекционных, онкологических и аутоиммунных заболеваний. Основной нашей концепцией является направленный дизайн генетических конструкций на основе химерных ДНК-генов человека и мыши для последующей интеграции в геном мыши с целью получения новых гуманизированных трансгенных и трансгенно-нокаутных линий, т.е. мы переходим от случайного выбора или поиска животных к созданию адекватных и оптимальных линий под конкретные эксперименты.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Зубкова О.В., Ожаровская Т.А., Должикова И.В., Попова О., Щербляков Д.В., Гроусова Д.М., Джуруллаева А.Ш., Тухватулин А.И., Тухватулина Н.М., Щербинин Д.Н., Есмагамбетов И.Б., Токарская Е.А., Ботиков А.Г., Ерохова А.С., Ижаева Ф.М., Семихин А.С., Борисевич С.В., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. *Фармацевтическое средство и способ его использования для индукции специфического иммунитета против вируса тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2 (варианты)*. Патент РФ № 2731342 С1, 2020. [Zubkova O.V., Ozharovskaya T.A., Dolzhikova I.V., Popova O., Shcherblyakov D.V., Grousova D.M., Dzharullayeva A.Sh., Tuxvatulin A.I., Tuxvatulina N.M., Shcherbinin D.N., Esmagambetov I.B., Tokarskaya E.A., Botikov A.G., Erokhova A.S., Izhaeva F.M., Semikhin A.S., Borisevich S.V., Naroditsky B.S., Logunov D.Yu., Ginzburg A.L. *Pharmaceutical product and a method of its use for the induction of specific immunity against the SARS-CoV-2 severe acute respiratory syndrome virus (variants)*]. Patent RU No. 2731342 C1, 2020. (In Russian)].
2. Каркищенко В.Н., Болотских Л.А., Капанадзе Г.Д., Каркищенко Н.Н., Колоскова Е.М., Максименко С.В., Матвеев Е.Л., Петрова Н.В., Рябых В.П., Ревякин А.О., Станкова Н.В., Семенов Х.Х. Создание линий трансгенных животных-моделей с генами человека NAT1 и NAT2. *Биомедицина*. 2016;1:74–84. [Karkischenko V.N., Bolotskikh L.A., Kapanadze G.D., Karkischenko N.N., Koloskova E.M., Maksimenko S.V., Matveyenko E.L., Petrova N.V., Ryabykh V.P., Revyakin A.O., Stankova N.V., Semenov Kh.Kh. *Sozdaniye liniy transgennykh zhi-*
3. Каркищенко В.Н., Петрова Н.В., Савченко Е.С., Огнева Н.С., Колоскова Е.М., Максименко С.В., Манувера В.А., Бобровский П.А., Лазарев В.Н. Создание полных гибридных ДНК-конструкций с геном человека *HLA-A\*02:01:01:01*. *Биомедицина*. 2021;17(1):10–23. [Karkischenko V.N., Petrova N.V., Savchenko E.S., Ogneva N.S., Koloskova E.M., Maksimenko S.V., Manuvera V.A., Bobrovsky P.A., Lazarev V.N. *Sozdaniye polnih gibritnih DNK-konstrukcij s genom cheloveka HLA-A\*02:01:01:01* [Chimeric Construct Engineering with Human Variant *HLA-A\*02:01:01:01*]. *Biomeditsina* [Journal Biomed]. 2021;17(1):10–23. (In Russian)].
4. Каркищенко В.Н., Рябых В.П., Каркищенко Н.Н., Дуля М.С., Езерский В.А., Колоскова Е.М., Лазарев В.Н., Максименко С.В., Петрова Н.В., Столярова В.Н., Трубицына Т.П. Молекулярно-генетические аспекты технологии получения трансгенных мышей с интегрированными генами N-ацетилтрансферазы (NAT1 и NAT2) человека. *Биомедицина*. 2016;1:4–17. [Karkischenko V.N., Ryabykh V.P., Karkischenko N.N., Dulya M.S., Ezerskiy V.A., Koloskova E.M., Lazarev V.N., Maksimenko S.V., Petrova N.V., Stolyarova V.N., Trubitsyna T.P. *Molekulyarno-geneticheskie aspekty tekhnologii polucheniya transgennykh myshey s integrirovannymi genami N-atsetiltransferazy (NAT1 i NAT2) cheloveka* [Molecular and genetic aspects of the technology for producing transgenic mice with integrated genes of human N-acetyltransferase (NAT1 and NAT2)]. *Biomeditsina* [Journal Biomed]. 2016;1:4–17. (In Russian)].
5. Каркищенко Н.Н., Глотова Е.С., Петрова Н.В., Слободенюк В.В., Ларюшина Н.А., Петров Д.В.,

- Васильева И.А., Дерябин К.Е. Генетический скрининг новой трансгенной гуманизированной по *HLA-A\*02:01:01:01* и  $\beta 2m$  линии мышей. *Биомедицина*. 2023;19(3E):10–24. [Karkischenko N.N., Glotova E.S., Petrova N.V., Slobodenyuk V.V., Laryushina N.A., Petrov D.V., Vasil'eva I.A. Deryabin K.E. Geneticheskij skрининг novoj transgennoj gumanizirovannoj po *HLA-A\*02:01:01:01* i  $\beta 2m$  linii myshey [Genetic screening of a new transgenic mouse line humanized for *HLA-A\*02:01:01:01* and  $\beta 2m$ ]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2023;19(3E):10–24. (In Russian)].
6. Каркищенко Н.Н., Рябых В.П., Каркищенко В.Н., Колоскова Е.М. Создание гуманизированных мышей для фармакотоксикологических исследований (успехи, неудачи и перспективы). *Биомедицина*. 2014;1(3):4–22. [Karkischenko N.N., Ryabykh V.P., Karkischenko V.N., Koloskova E.M. Sozdanie gumanizirovannykh myshey dlya farmakotoksikologicheskikh issledovaniy (uspekhi, neudachi i perspektivy) [Creation of humanized mice for pharmacotoxicological research (successes, failures and prospects)]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2014;1(3):4–22. (In Russian)].
  7. Кондратьева Л.Г., Кашкин К.Н., Чернов И.П., Стукачева Е.А., Дыдыч Д.А., Копанцев Е.П., Сverdlov E.D. PCNA: конститутивный промотор человека для экспрессии генов в целях их функционального и генно-терапевтического использования. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2017; 3:89–92. [Kondratyeva L.G., Kashkin K.N., Chernov I.P., Stukacheva E.A., Dydych D.A., Kopantzev E.P., Sverdlov E.D. PCNA: konstitutivnij promotor cheloveka dlya ekspressii genov v celyah ih funktsionalnogo i genno-terapevticheskogo ispolzovania. [PCNA: constitutive human promoter for expression of genes for their functional and therapeutic use]. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2017;3:89–92. (In Russian)].
  8. Кузьмина Е.П., Чапова Р.С., Хамганова Е.Г. Распределение частот аллелей гена HLA-C и HLA-C1, -C2 групп лигандов для KIR среди потенциальных доноров костного мозга. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016;12(2): 291–294. [Kuzminova E.P., Chapova R.S., Khamaganova E.G. Rasprezhenie chastot allele gena HLA-C i HLA-C1, -C2 grupp ligandov dlya KIR sredi potencialnih donorov kostnogo mozga [Frequency distribution of alleles of the HLA-C and HLA-C1, -C2 ligand groups for KIR among potential bone marrow donors]. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovaniy [International Journal of Applied and Fundamental Research]*. 2016;12(2): 291–294. (In Russian)].
  9. Леонов Е.А. Аллельный и гаплотипический полиморфизм HLA-генов доноров гемопоэтических стволовых клеток регистра, самоопределившихся как русские: дисс. ... канд. биол. наук. М., 2022:117. [Leonov E.A. *Allel'nyy i gaplotipicheskij polimorfizm HLA-genov donorov gemoipoeticheskikh stvolovykh kletok registra, samoopredelivshisya kak russkie: diss. ... kand. biol. nauk*. М., 2022:117.
  10. Савченко Е.С., Огнева Н.С., Каркищенко Н.Н. Эмбриологические аспекты создания новой гуманизированной трансгенной линии мышей с интегрированным геном человека *HLA-A\*02:01:01:01*. *Биомедицина*. 2022;18(4):10–23. [Savchenko E.S., Ogneva N.S., Karkischenko N.N. Embriologicheskie aspekty sozdaniya novoj gumanizirovannoj transgennoj linii myshey s integrirovannym genom cheloveka *HLA-A\*02:01:01:01* [Embryological aspects of creation a new humanized transgenic mice with integrated human *HLA-A\*02:01:01:01* gene]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2022;18(4):10–23. (In Russian)].
  11. Степанов В.А. Геномы, популяции, болезни: этническая геномика и персонализированная медицина. *Acta Naturae* (русскоязычная версия). 2010;2(4): 18–34. [Stepanov V.A. Genomi, populyacii, bolezni: etnicheskaya genomika i personificirovannaya medicina [Genomes, populations, diseases: ethnic genomics and personalized medicine]. *Acta Naturae* (Russian version). 2010;2(4):18–34. (In Russian)].
  12. Суслова Т.А., Крохин А.А., Вавилов М.Н., Беляева С.В., Евдокимов А.В., Родионова Е.С., Султанова А.А., Чуманова Е.А., Миронова Е.А., Кофиади И.А. Генетические факторы, предрасполагающие к развитию COVID-19 (HLA, AB0, RH-HR). *Вестник гематологии*. 2021;17(3): 64–65. [Suslova T.A., Krokhin A.A., Vavilov M.N., Belyaeva S.V., Evdokimov A.V., Rodionova E.S., Sultanova A.A., Chumanova E.A., Mironova E.A., Kofiadi I.A. Geneticheskie factori, predpolagayuzhie k razvitiyu COVID-19 (HLA, AB0, RH-HR) [Genetic factors predisposing to the development of COVID-19 (HLA, AB0, RH-HR)]. *Bulletin of Hematology*. 2021;17(3):64–65. (In Russian)].
  13. Сычев Д.А., Шувев Г.Н., Торбенков Е.С., Адриянова М.А. Персонализированная медицина: взгляд клинического фармаколога. *Consilium Medicum*. 2017;19(1):61–68. [Sychev D.A., Shuev G.N., Torbenkov E.S., Adrijanova M.A. Personalizirovannaya medicina: vzglyad klinicheskogo farmakologa [Personalized medicine: clinical pharmacologist's opinion]. *Consilium Medicum*. 2017;19(1):61–68. (In Russian)].
  14. Хайтов Р.М., Алексеев Л.П., Гудима Г.О., Кофиади И.А. Аллельные варианты генов человека, затрагивающие внутриклеточный жизненный цикл ВИЧ и регулирующие иммунный ответ на ВИЧ-инфекцию. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019;18(1):119–130. [Khaitov R.M., Alexeev L.P., Gudima G.O., Kofiadi I.A. Allel'nie variant genov cheloveka, zatragivayushie vnutrikletochnyy zhiznennyy cikl VICH i reguliruyuzhie immunnyy otvet na VICH-infekciyu [Allelic variants of human HIV in-

- tracellular life cycle and regulating immune response of HIV infection]. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019;18(1):119–130. (In Russian)].
- Хамаганова Е.Г., Абдрахимова А.Р., Леонов Е.А., Хижинский С.П., Гапонова Т.В., Савченко В.Г. Секвенирование следующего поколения в HLA-типировании больных с показаниями к трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток и их доноров. *Гематология и трансфузиология*. 2021;66(2):206–217. [Khamaganova E.G., Abdrakhimova A.R., Leonov E.A., Khizhinskiy S.P., Gaponova T.V., Savchenko V.G. Sekvenirovanie sleduyushogo pokoleniya v HLA-tipirovanii bolnih s pokazaniami k transplantatsii allogennih gemopoiticheskikh stvolovih kletok i ih donorov [Next generation sequencing HLA-typing of recipients and donors of allogeneic haematopoietic stem cells]. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology*. 2021;66(2): 206–217. (In Russian)].
  - Alexopoulou A.N., Couchman J.R., Whiteford J.R. The CMV early enhancer/chicken  $\beta$  actin (CAG) promoter can be used to drive transgene expression during the differentiation of murine embryonic stem cells into vascular progenitors. *BMC Cell Biol*. 2008;9(2). DOI: 10.1186/1471-2121-9-2.
  - Brittain H.K., Scott R., Thomas E. The rise of the genome and personalised medicine. *Clin. Med. (Lond.)*. 2017;17(6):545–551. DOI: 10.7861/clinmedicine.17-6-545.
  - Gray S.J., Foti S.B., Schwartz J.W., Bachaboina L., Taylor-Blake B., Coleman J., Ehlers M.D., Zylka M.J., McCown T.J., Samulski R.J. Optimizing promoters for recombinant adeno-associated virus-mediated gene expression in the peripheral and central nervous system using self-complementary vectors. *Hum. Gene Ther.* 2011;22(9):1143–1153. doi: 10.1089/hum.2010.245.
  - Kitpoka P., Tammakorn C., Chaisri S., Leelayuwat C., et al. Genetic profiles of killer-cell immunoglobulin-like receptors and HLA ligands in Thai blood donors. *Human Immunology*. 2016;77:470–475. doi: 10.1016/j.humimm.2016.04.019.
  - Marshall S., Madabushi R., Manolis E., Krudys K., Staab A., Dykstra K., Visser S.A.G. Model-Informed Drug Discovery and Development: Current Industry Good Practice and Regulatory Expectations and Future Perspectives. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* 2019;8(2):87–96. DOI: 10.1002/psp4.12372.
  - Powell S.K., Rivera-Soto R., Gray S.J. Viral expression cassette elements to enhance transgene target specificity and expression in gene therapy. *Discov. Med.* 2015;19(102):49–57.
  - Shkurnikov M., Nersisyan S., Jankevicius T., Galatenko A., Gordeev I., Vechorko V., Tonevitsky A. Association of HLA Class I Genotypes With Severity of Coronavirus Disease-19. *Front. Immunol.* 2021;12:641900. DOI: 10.3389/fimmu.2021.641900.
  - Wang W., Jia Y.L., Li Y.C., Jing C.Q., Guo X., Shang X.F., Zhao C.P., Wang T.Y. Impact of different promoters, promoter mutation, and an enhancer on recombinant protein expression in CHO cells. *Scientific Reports*. 2017;8:10416.
  - Yang C.Q., Li X.Y., Li Q., Fu S.L., Li H., Guo Z.K., Lin J.T., Zhao S.T. Evaluation of three different promoters driving gene expression in developing chicken embryo by using in vivo electroporation. *Genet. Mol. Res.* 2014;13:1270–1277.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

**Лазарев Василий Николаевич**, д.б.н., доц., ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина ФМБА России»;  
e-mail: [lazar0@mail.ru](mailto:lazar0@mail.ru)

**Манувера Валентин Александрович**, к.б.н., ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина ФМБА России»;  
e-mail: [vmanuvera@yandex.ru](mailto:vmanuvera@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](mailto:niknik2808@yandex.ru)

**Vassili N. Lazarev**, Dr. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Lopukhin Federal Research And Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
e-mail: [lazar0@mail.ru](mailto:lazar0@mail.ru)

**Valentin A. Manuvera**, Cand. Sci. (Biol.), Lopukhin Federal Research And Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
e-mail: [vmanuvera@yandex.ru](mailto:vmanuvera@yandex.ru)

**Бобровский Павел Александрович**, к.б.н., ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина ФМБА России»;  
**e-mail:** [pbobrovskiy@gmail.com](mailto:pbobrovskiy@gmail.com)

**Pavel A. Bobrovsky**, Cand. Sci. (Biol.), Lopukhin Federal Research And Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail:** [pbobrovskiy@gmail.com](mailto:pbobrovskiy@gmail.com)

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

**Natalia V. Petrova\***, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail:** [m-sklad@yandex.ru](mailto:m-sklad@yandex.ru)

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

**Elena M. Koloskova**, Cand. Sci. (Biol.), All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition — branch of the Federal Scientific Centre of Animal Husbandry — All-Russian Institute of Animal Husbandry named after acad. L.K. Ernst;  
**e-mail:** [heleko3@yandex.ru](mailto:heleko3@yandex.ru)

**Глотова Елена Сергеевна**, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;  
**e-mail:** [savelaine@gmail.com](mailto:savelaine@gmail.com)

**Elena S. Glotova**, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail:** [savelaine@gmail.com](mailto:savelaine@gmail.com)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-21-32>



## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ПЕПТИДНОГО ПРЕПАРАТА «ЛЕЙТРАГИН» В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ТКАНИ ЛЁГКОГО МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6Y ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ИНГАЛЯЦИОННОГО ВВЕДЕНИЯ

Н.С. Огнева\*, М.С. Нестеров, Д.В. Хвостов, Ю.В. Фокин, В.Н. Каркищенко

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

В настоящей работе описывается исследование фармакокинетики нового ингаляционного противовоспалительного гексапептида, зарегистрированного под названием «Лейтрагин» и применяющегося в качестве нового подхода в лечении вирусных пневмоний, тяжёлое течение которых напрямую связано с цитокиновым воспалительным каскадом, именуемым «цитокиновый шторм». Исследование проводилось в тканях лёгкого и сыворотке крови после его однократного ингаляционного введения мышам линии C57BL/6Y в дозе 150 мг/кг. Время достижения максимальной концентрации (Tmax) Лейтрагина в сыворотке крови и лёгких составило 30 и 10 мин соответственно. Максимальная концентрация (Cmax) в лёгких составила 358,5 нг/г, что более чем в 6 раз превышает концентрационный максимум для крови (53,84 нг/г). Обнаружено, что Лейтрагин после ингаляционного введения довольно быстро выводится из организма с периодом полувыведения препарата (t1/2el) из сыворотки крови и лёгких, которые составляют от 25,8 до 38,9 мин.

**Ключевые слова:** фармакокинетика, Лейтрагин, ингаляционное введение, мыши C57BL/6Y

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

**Для цитирования:** Огнева Н.С., Нестеров М.С., Хвостов Д.В., Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н. Сравнительное изучение фармакокинетики пептидного препарата «Лейтрагин» в сыворотке крови и ткани лёгкого мышей линии C57BL/6Y после однократного ингаляционного введения. *Биомедицина*. 2024;20(1):21–32. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-21-32>

Поступила 12.02.2024

Принята после доработки 28.02.2024

Опубликована 10.03.2024

## COMPARATIVE PHARMACOKINETICS STUDY OF THE LEUTRAGIN PEPTIDE DRUG IN BLOOD SERUM AND LUNG TISSUE IN C57BL/6Y MICE AFTER SINGLE INHALATION ADMINISTRATION

Nastasya S. Ogneva\*, Maxim S. Nesterov, Daniil V. Khvostov,  
Yuriy V. Fokin, Vladislav N. Karkischenko

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

This paper presents a study into the pharmacokinetics of a new inhaled anti-inflammatory hexapeptide, registered as “Leutragin”. This drug is used as a new treatment approach for viral pneumonias, whose severe course is directly related to the cytokine inflammatory cascade referred to as a cytokine storm. The study involved investigation of lung tissue and serum after a single inhalation administration of Leutragin to mice of the C57BL/6Y line at a dose of 150 mg/kg. The time required to reach the maximum concentration (Tmax) of Leutragin in serum and lung was 30 min and 10 min, respectively. The maximum concentration



(C<sub>max</sub>) in lung was 358.5 ng/g, which exceeded the concentration maximum for blood (53.84 ng/g) by over six times. It was found that, after inhalation administration, Leutrugin is rather rapidly eliminated from the body with the half-life of the drug (t<sub>1/2el</sub>) from blood serum and lungs ranging from 25.8 to 38.9 min.

**Keywords:** pharmacokinetics, Leutrugin, inhalation administration, C57Bl/6Y mice

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

**For citation:** Ogneva N.S., Nesterov M.S., Khvostov D.V., Fokin Yu.V., Karkischenko V.N. Comparative Pharmacokinetics Study of the Leutrugin Peptide Drug in Blood Serum and Lung Tissue in C57BL/6Y Mice after Single Inhalation Administration. *Journal Biomed.* 2024;20(1):21–32. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-21-32>

Submitted 12.02.2023

Revised 28.02.2024

Published 10.03.2024

## Введение

Лейтрагин — гексапептид, синтетический аналог естественной информационной молекулы нейропептида лейцин-энкефалина, обладающий регуляторной многоуровневой полифункциональностью, действующий как неселективный агонист  $\mu$ - и  $\delta$ -опиатных рецепторов. Впервые вещество было синтезировано профессором М.И. Титовым в лаборатории синтеза пептидов ВКНЦ АМН СССР в 1984 году [16]. Химическая формула вещества (тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргина диацетат) представлена на рис. 1, брутто формула — C<sub>35</sub>H<sub>51</sub>N<sub>9</sub>O<sub>8</sub>.

В структуре лейцин-энкефалина (Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu) для увеличения стабильности пептида в его аминокислотной последовательности проведена замена Gly2 на D-Ala2; для получения периферического эффекта к C-терминальной части молекулы добавлен сильно заряженный остаток аргинина. Последнее преобразование затрудняет проникновение препарата через гематоэнцефалический барьер [4, 5]. В экспериментальных исследованиях, проведенных под руководством д.м.н. В.А. Виноградова, было доказано, что гексапептид (торговое название — «Даларгин») обладает выраженными репаративными

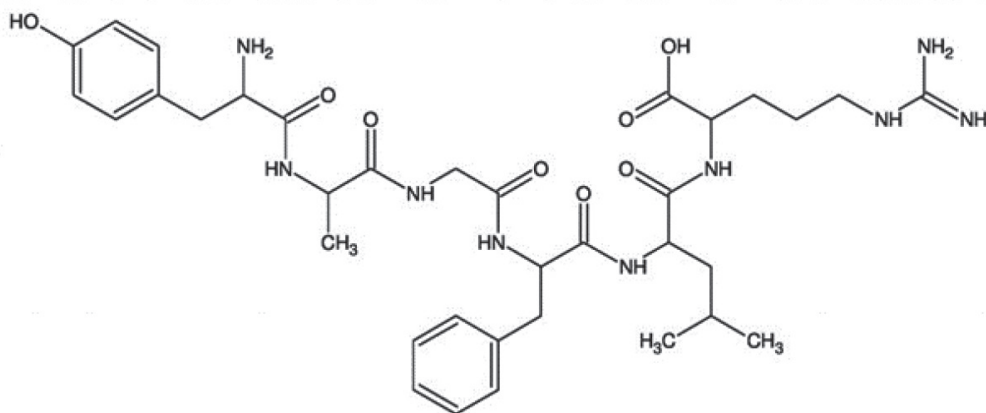


Рис. 1. Структурная формула Лейтрагина.

Fig. 1. Structural formula of Leutrugin.

способностями в отношении эрозивно-язвенных поражений и демонстрирует высокую противоязвенную активность [5]. В связи с этим полученный препарат Даларгин активно применяется в клинической практике парентерально в качестве средства для лечения гастроэнтерологических патологий.

В результате многочисленных исследований было обнаружено, что спектр фармакологической активности Даларгина более широкий: в частности, выявлены выраженные эффекты его влияния на состояние гемодинамики [1, 2, 6, 12]. Таким образом, имеющиеся данные позволяют рассматривать Даларгин в качестве потенциального фармакологического агента, модулирующего состояние сердца и сосудов. Даларгин обладает выраженным противострессорным, противошоковым, антиаритмическим и антиишемическим действием [2, 17]. Перечисленные выше свойства препарата позволяют применять его в хирургии в составе комплексной анестезии; в кардиологии — при остром инфаркте миокарда с доказанным кардиопротекторным эффектом; в реанимации — для оказания экстренной медицинской помощи. Большой интерес представляют данные, полученные д.м.н. А.В. Донцовым. Автором было показано, что Даларгин способен снижать аномальное повышение концентрации цитокинов ИЛ-1, -6 и ФНО- $\alpha$  у больных метаболическим синдромом и ишемической болезнью сердца (ИБС). Обнаружено, что применение в комплексной терапии по поводу хронической ИБС синтетического лей-энкефалина (Даларгина) приводит к выраженному (в 2–2,5 раза) снижению сывороточной концентрации цитокинов, чего не наблюдалось в группе стандартной медикаментозной терапии [6, 7]. Возможно, именно влияние на уровень цитокинов обуславливает эффективность Даларгина при внебольничной пневмонии. Так, в исследовании [3] было показано, что введение в схему лече-

ния больных внебольничной пневмонией Даларгина в дозе 2 мг/сут в течение 10 дней позволило в 6,3 раза увеличить процент наблюдений неизменной слизистой оболочки в периоде реконвалесценции.

В 2020 году в связи с появлением пандемии, вызванной новой коронавирусной инфекцией COVID-19, сотрудниками ФГБУН НЦБМТ ФМБА России был предложен ингаляционный путь введения препарата, зарегистрированного под названием «Лейтрагин», в качестве нового подхода в лечении пневмоний, вызванных вирусом SARS-CoV-2, тяжёлое течение которых напрямую связано с цитокиновым воспалительным каскадом, именуемым «цитокиновый шторм» [8–11]. Кроме того, важны обнаруженные кардиоваскулярные эффекты гексапептида, поскольку SARS-CoV-2 нередко поражает клетки сердечной мышцы и эндотелия.

К сожалению, большинство данных о фармакокинетики данного гексапептида было получено 40 лет назад, когда биоаналитические технологии обладали невысокой селективностью и чувствительностью. Кроме того, фармакокинетика гексапептида при ингаляционном введении не изучалась. В настоящее время, в связи с развитием масс-спектрометрических подходов в биоаналитике, появилась возможность изучения фармакокинетических свойств Лейтрагина с помощью более избирательных методов — в частности, с помощью метода ВЭЖХ-масс-спектрометрии высокого разрешения.

**Целью работы** явилось изучение фармакокинетики пептидного препарата Лейтрагин после однократного ингаляционного введения в дозе 150 мг/кг с помощью метода ВЭЖХ в комбинации с масс-спектрометрией высокого разрешения (ВЭЖХ-МСВР) и идентификацией Лейтрагина на квадруполь-времяпролётном масс-детекторе в сыворотке крови и ткани лёгких мышей линии C57BL/6Y.

## Материалы и методы

### Дизайн исследования

Исследование фармакокинетики проводилось по 9 временным точкам: 0 (до введения препарата); 2,5; 5; 10; 20; 15; 30; 60; 120 мин. В каждую точку было отобрано по 6 мышей. Ингаляции препарата проводились с помощью компрессионного ингалятора OMRON COMP AIR NE-C24 Kids с насадкой для одномоментного введения нескольким мышам, разработанной в НЦБМТ ФМБА России [13]. Кровь отбиралась под наркозом из заглазничного синуса в объёме около 1 мл в пробирки типа Eppendorf по 1,5 мл с соответствующей маркировкой, содержащей порядковый номер точки и животного. Ткани лёгкого целиком извлекались у животного постмортально и переносились в пробирки типа Eppendorf с аналогичной маркировкой.

### Лабораторные животные

Исследования проводились в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России на мышах линии C57BL/6Y, самках в возрасте около 2,5 мес., средней массой  $20 \pm 2,0$  г. Животные были получены из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская обл.) и отобраны в эксперимент методом рандомизации. Мышей содержали в микроизоляторной системе Rair IsoSystem по 6 особей в группе. Животные соответствовали категории улучшенных конвенциональных. В качестве рациона получали стандартный комбикорм гранулированный полнорационный для лабораторных животных (экструдированный) ПК-120 ГОСТ Р 51849-2001 Р.5. Водопроводная очищенная вода всем животным давалась *ad libitum* в стандартных поилках. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды при температуре воздуха 18–22°C, относительной влажности 60–70% и искусственном освещении с циклом 12/12.

Исследования проводились в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета о защите живот-

ных, используемых в научных целях, от 22.09.2010; Базельской декларацией (2011); Федеральным законом от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»; ГОСТ 53434-2009 от 02.12.2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)»; Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза»; Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств»; Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов»; Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств [14]; Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [15]. Все эксперименты были одобрены биоэтической комиссией ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

### Пробоподготовка

Аликвоту лёгких мыши массой 300 мг отбирали в специальные пробирки с пластиковыми шариками. Добавляли к навеске 600 мкл 90% ацетонитрила. Образцы гомогенизированной на приборе MagNA Lyser («Roche», Швейцария) в течение 20 с при 7000 об./мин, не допуская перегрева образцов. Добавляли 400 мкл ацетонитрила и центрифугировали при 13500 об./мин в течение 5 мин при 4°C. Надосадочную жидкость, полученную из ткани лёгких, наносили на планшет Captiva ND 96-well plate. Для исследуемого образца сыворотки крови в планшет заранее добавляли 800 мкл ацетонитрила и наносили образец объ-

ёмом 0,2 см<sup>3</sup>. Далее, следуя протоколу, производили фильтрацию раствора в течение 10 мин, осаждая при этом белки сыворотки крови и лёгких на картридже под вакуумом. Полученный фильтрат переносили в пробирки объёмом 1,5 мл. Упаривали на концентраторе при 1500 об./мин, температуре 45°C в течение 45 мин, с последующим восстановлением сухого остатка в 200 мкл ацетонитрила. После этого полученный раствор переносили на планшет. В ВЭЖХ-МС анализ вводили 0,002 см<sup>3</sup> фильтрата.

### Метод идентификации

Идентификацию Лейтрагина выполняли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией высокого разрешения с применением время-пролётного масс-детектора (ВЭЖХ-МС ВР) на хроматографе жидкостном Agilent 1260, оснащённом автодозатором, с масс-селективным детектором Agilent 6545ХТ Accurate mass Q-TOF LC/MS. Идентификация анализа проводилась по времени хроматографического удерживания и масс-спектрометрическим характеристикам (рис. 2). Критерием надёжной идентификации являлось детектирование сигнала с соотношением сигнал:шум не менее 5:1 при времени удерживания, совпадающем в пределах 0,1 мин со временем удерживания, установленным для Лейтрагина в образцах для градуировки. Для надёжной идентификации требовалось, чтобы в масс-спектре присутствовали все пики, имеющиеся в масс-спектре аутентичного соединения, с относительной интенсивностью 10% и более. При этом максимальное расхождение в значениях относительных интенсивностей ионов в анализируемом и справочном масс-спектрах не должно было превышать 20%.

Масс-спектр фрагментации и типичный вид масс-хроматограммы приведены на рис. 2.

### Статистическая обработка полученных результатов

Полученные экспериментальные данные были подвергнуты математической статисти-

ческой обработке с помощью программы «Excel v.7.0». В таблицах представлены средние арифметические значения величин ( $\bar{x}$ ), стандартные отклонения (SD) и коэффициент вариации (C.V.). Достоверность различий для сравниваемых фармакокинетических параметров оценивали с помощью критерия Стьюдента (программа «Statistica 6.0»). Рисунки были выполнены с использованием графического редактора «Origin v.7.0».

## Результаты и их обсуждение

### Фармакокинетика Лейтрагина

#### в сыворотке крови мышей после его однократного ингаляционного введения

Изучение фармакокинетики Лейтрагина в сыворотке крови мышей проводилось после его ингаляционного введения в дозе 150 мг/кг. Концентрации и кинетические кривые Лейтрагина в сыворотке крови представлены в табл. 1 и на рис. 3. Поскольку на каждую временную точку использовали по 6 животных, результирующая фармакокинетическая кривая была построена по усредненным концентрациям, поэтому при расчётах фармакокинетических параметров отсутствует статистическая обработка результатов.

С помощью проведённого анализа были получены такие фармакокинетические параметры, как период полуэлиминации ( $T_{1/2el}$  — 38,8 мин), среднее время удерживания вещества в организме (MRT — 62,4 мин) и время достижения максимальной концентрации ( $T_{max}$  — 0,5 ч).

#### Кинетика распределения Лейтрагина в лёгких мышей после его однократного ингаляционного введения

Важный этап при проведении фармакокинетических исследований — изучение тканевой доступности новых лекарственных средств. Основным результатом процессов распределения является транспорт лекарственного средства в зону действия, где оно взаимодействует со структурами, опреде-

Вещество	Диагностические массовое число родительского иона	Диагностическое массовое числа дочернего иона	Время удерживания (мин)
Лейтрагин	363,69±0,005 (M+2H) <sup>2+</sup>	136,07±0,003	20,3±0,05



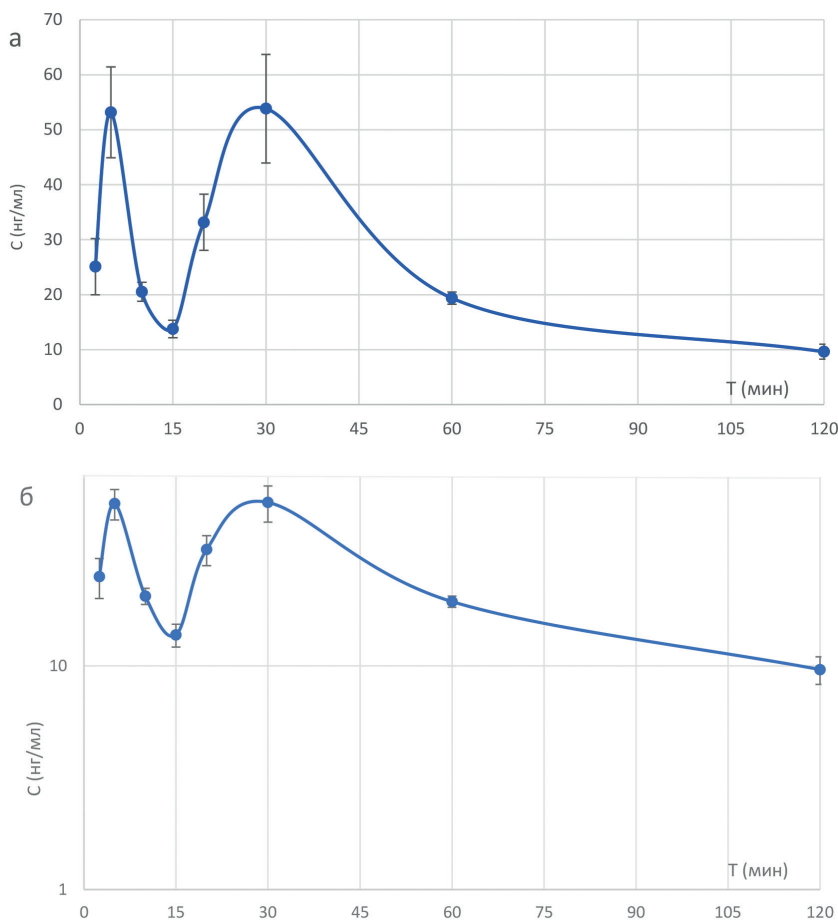
Рис. 2. Условия регистрации: спектр фрагментации и время удерживания гексапептида в составе препарата Лейтрагин.

Fig. 2. Registration conditions: fragmentation spectrum and retention time of hexapeptide in the Leutragin drug.



**Таблица 1.** Концентрации Лейтрагина (нг/мл) в сыворотке крови мышей после ингаляционного введения в дозе 150 мг/кг  
**Table 1.** Leustragin concentrations (ng/mL) in mouse serum after inhalation administration at a dose of 150 mg/kg

Tmin	0,0	2,5	5	10	15	20	30	60	120
1	0,00	21,91	35,78	22,72	15,54	31,11	64,14	21,57	7,36
2	0,00	19,69	70,60	18,18	12,25	48,47	42,09	18,21	12,22
3	0,00	38,62	53,19	17,74	13,66	25,88	35,93	20,53	9,11
4	0,00	26,48	60,52	23,13	16,78	31,79	71,12	17,98	8,31
5	0,00	18,39	45,78	20,83	10,56	28,56	55,90	18,61	11,12
6	0,00	25,54	53,17	20,49	13,76	33,16	53,84	19,37	9,62
$\bar{x}$	0,00	25,11	53,17	20,52	13,76	33,16	53,84	19,38	9,62
SD	0,00	5,11	8,26	1,71	1,60	5,10	9,88	1,11	1,36
CV, %	0,00	20,35	15,54	8,34	11,65	15,39	18,36	5,75	14,16



**Рис. 3.** Кинетические кривые Лейтрагина в сыворотке крови после его ингаляционного введения животным в дозе 150 мг/кг (а — натуральная шкала, б — полулогарифмическая шкала).

**Fig. 3.** Kinetic curves of Leustragin in serum after its inhalation administration to animals at a dose of 150 mg/kg (a — natural scale, б — semi-logarithmic scale).

ляющими эффект препарата. На основании определения величины тканевой доступности возможна количественная оценка интенсивности проникновения действующего вещества в периферические ткани и орган-мишень.

Распределение Лейтрагина изучали в лёгких как основной зоне потенциального действия, т.е. в ткани лёгкого. Концентрации Лейтрагина в лёгких мышей после однократного ингаляционного введения в дозе 150 мг/кг представлены в табл. 2. Динамика изменения концентраций препарата в крови и лёгких в дискретные интервалы времени представлена на рис. 4. Лейтрагин

определялся в сыворотке крови и лёгких в течение 2 ч. Снижение концентраций препарата в лёгких носило моноэкспоненциальный характер (рис. 4), а в сыворотке крови — описывалось биэкспоненциально. По всей видимости, данный эффект связан с тем, что исчезновение Лейтрагина из крови обусловлено двумя основными процессами: ферментативным гидролизом и проникновением в ткани с последующим рецепторным захватом.

Анализ абсолютных величин тканевой доступности (fT) Лейтрагина (табл. 3) показал, что исследуемое соединение наиболее интенсивно распределяется в лёгких.

**Таблица 2.** Концентрация Лейтрагина (нг/мл) в лёгких мышей после его однократного ингаляционного введения в дозе 150 мг/кг

**Table 2.** Leutragin concentration (ng/mL) in the lungs of mice after its single inhalation administration at a dose of 150 mg/kg

Tmin	0,0	2,5	5	10	15	20	30	60	120
1	0,00	78,65	205,45	644,71	41,97	30,14	28,92	12,45	6,87
2	0,00	76,39	177,61	48,02	73,21	43,54	23,93	13,67	6,07
3	0,00	65,85	223,47	384,39	85,75	34,89	30,87	7,95	8,05
4	0,00	85,31	143,71	299,67	103,25	32,65	40,75	14,10	5,48
5	0,00	71,33	199,49	419,55	94,77	29,34	19,87	13,20	9,34
6	0,00	63,63	212,59	354,74	81,33	14,17	27,41	12,01	5,95
$\bar{x}$	0,00	73,53	193,72	358,50	80,05	30,79	28,62	12,23	6,96
SD	0,00	6,59	22,04	124,38	14,97	6,24	4,89	1,50	1,16
CV, %	0,00	8,97	11,38	34,70	18,70	20,26	17,08	12,28	16,61

**Таблица 3.** Фармакокинетические параметры Лейтрагина в сыворотке крови и легких мышей после его ингаляционного введения в дозе 150 мг/кг

**Table 3.** Pharmacokinetic parameters of Leutragin in mice serum and lungs after its inhalation administration at a dose of 150 mg/kg

Объект исследования		Сыворотка крови	Ткань легкого
$C_{max}$	нг/мл/г	53,84	358,50
$T_{max}$	мин	30,0	10,0
$t_{1/2el}$	мин	38,86	25,75
MRT	мин	62,37	27,72
$AUC_{0-t}$	нг/мл (г)´ мин	2919,76	4665,50
$AUC_{0-\infty}$	нг/мл (г)´ мин	3403,45	4831,25
$C_{max}/AUC_{0-t}$	мин <sup>-1</sup>	0,018	—
$C_{max}/AUC_{0-\infty}$	мин <sup>-1</sup>	0,016	—
$f_{T 0-t}$	%		1,60
$f_{T 0-\infty}$	%		1,42

Тканевая доступность Лейтрагина в системе «кровь — лёгкие» составила 1,6.

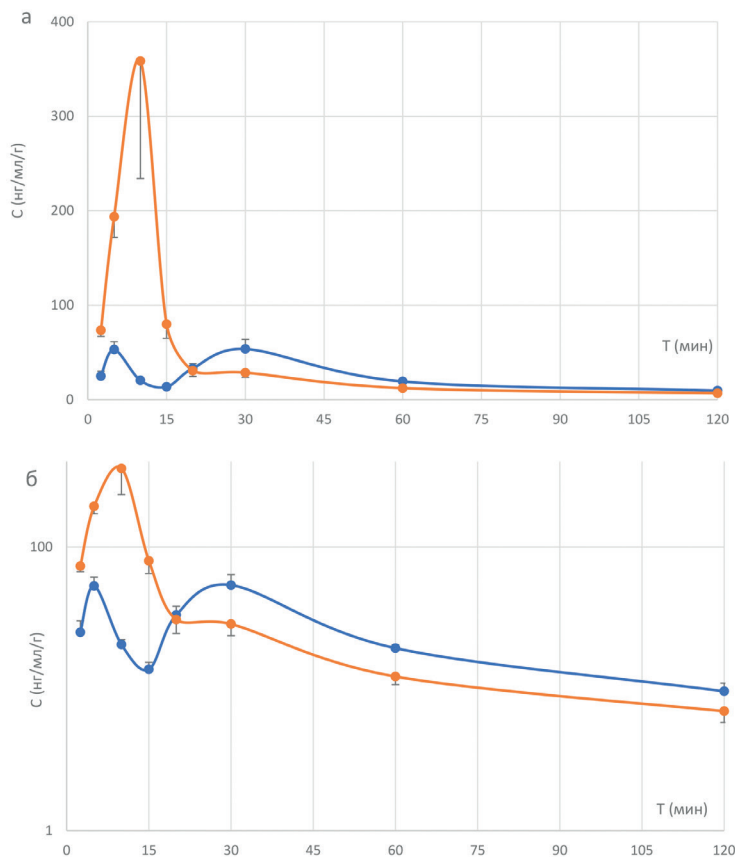
Время достижения максимальной концентрации ( $T_{max}$ ) Лейтрагина в сыворотке крови и лёгких составило 30 и 10 мин соответственно. Максимальная концентрация ( $C_{max}$ ) в лёгких составила 358,5 нг/г, что более чем в 6 раз превышает концентрационный максимум в крови (53,84 нг/г).

Анализ параметров фармакокинетики позволяет заключить, что Лейтрагин довольно быстро выводится из организма, на что указывают значения периода полувыведения препарата ( $T_{1/2el}$ ) из сыворотки

крови и лёгких, которые составляют от 25,8 до 38,9 мин (рис. 4).

Полученные данные указывают на то, что Лейтрагин создаёт высокие концентрации в лёгких, что позволяет сделать вывод о преимущественно местном действии Лейтрагина при его ингаляционном введении. Препарат быстро выводится из лёгких,  $T_{1/2el}$  составляет 3 мин. Короткий период полувыведения препарата из лёгких обусловлен интенсивностью процессов энзиматического гидролиза в данном органе.

Бизэкспоненциальность кривой элиминации Лейтрагина из сыворотки крови



**Рис. 4.** Кинетические кривые Лейтрагина в сыворотке крови (синяя линия) и в тканях лёгких (оранжевая линия) после его ингаляционного введения животным в дозе 150 мг/кг (а — натуральная шкала, б — логарифмическая шкала).  
**Fig. 4.** Kinetic curves of Leutrugin in serum (blue line) and in lung tissues (orange line) after its inhalation administration to animals at a dose of 150 mg/kg (a — natural scale, б — logarithmic scale).

может быть объяснена феноменом функциональной десенситизации механизмов активного транспорта препарата из лёгких в системный кровоток, возникающей вследствие высокой концентрации Лейтрагина в этом органе.

## Выводы

- Разработана методика количественного определения Лейтрагина в биологическом материале на основе ВЭЖХ-МСВР. Предел обнаружения — 0,1 нг/мл.
- После введения Лейтрагина в дозе 150 мг/кг в организме мышей препарат определялся на протяжении 2 ч. Полупериод элими-

нации Лейтрагина после ингаляционного введения для сыворотки крови составляет 38,86 мин, для ткани лёгкого — 25,75 мин.

- Показано, что тканевая доступность Лейтрагина для ткани лёгкого составляет 1,6.
- Обнаружено, что Лейтрагин после ингаляционного введения довольно быстро выводится из организма с периодом полувыведения препарата ( $T_{1/2el}$ ) из сыворотки крови и лёгких, которые составляют от 25,8 до 38,9 мин.
- Максимальная концентрация ( $C_{max}$ ) в лёгких составила 358,5 нг/г, что более чем в 6 раз превышает концентрационный максимум для крови (53,84 нг/г).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Бебякова Н.А., Левицкий С.Н., Командресова Т.М., Шабалина И.А. К механизмам антиконстрикторного эффекта даларгина. *Arctic Environmental Research*. 2012. [Bebyakova N.A., Levitsky S.N., Komandresova T.M., Shabalina I.A. K mehanismam antikonstriktornogo efekta dalargina [To the mechanisms of the anticonstrictor effect of dalargin]. *Arctic Environmental Research*. 2012. (In Russian)].
2. Бебякова Н.А., Левицкий С.Н., Хромова А.В., Шабалина И.А., Командресова Т.М. Кардиоваскулярные эффекты даларгина в условиях острого стресса. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2014;(8(27)Ч. 1):34–36. [Bebyakova N.A., Levitsky S.N., Khromova A.V., Shabalina I.A., Komandresova T.M. Kardio-vasulyarnie efekty dalargina v usloviyah ostrogo stressa [Cardio-vascular effects of dalargin in conditions of acute stress]. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy jurnal [International Research Journal]*. 2014;(8(27)Ч. 1):34–36 (In Russian)].
3. Боровская Т.Ф., Курпас Э.Х., Гориславец С.Н. Опыт использования даларгина в лечении больных внебольничной пневмонией. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2004;17:85–88. [Borovskaya T.Ph., Kurpas E.H., Gorislavec S.N. Oпит ispol'zovaniya dalargina v lechenii bol'nih vnebol'nichnoy pnevmoniyey [Experience of using dalargin in the treatment of patients with out-of-hospital pneumonia]. *Bulleten' p'fizologii i patologii dihaniya [Bulletin of physiology and pathology of respiration]*. 2004;17:85–88. (In Russian)].
4. Вальдман А.В. *Фармакология нейропептидов*. Сб. трудов. М., 1982:147. [Val'dman A.V. *Pharmacology of neuropeptides*. Sb. trudov [Collection of works]. Moscow, 1982:147. (In Russian)].
5. Виноградов В.А., Полонский В.М. Даларгин — первый аналог энкефалинов, применяемых в гастроэнтерологии. *Тер. архив*. 1988;8:147–153. [Vinogradov V.A., Polonskiy V.M. Dalargin — perviy analog enkephalinov, primenyaemih v gastroenterologii [Dalargin — the first enkephalin analog, used in gastroenterology]. *Ter. Arhiv*. 1988;8:147–153 (In Russian)].
6. Донцов А.В. Возможности даларгина в лечении больных ИБС. *Вестник новых медицинских технологий*. 2012;19(3):159–161. [Doncov A.V. Vozmozhnosti dalargina v lechenii bol'nih IBS [Possibilities of dalargin in the treatment of IBS patients]. *Vestnik novih medicinskih tehnologiy [Bulletin of New Medical Technologies]*. 2012;19(3):159–161. (In Russian)].
7. Донцов А.В. Эффективность даларгина в коррекции цитокинового профиля у больных ИБС и метаболическим синдромом. *Человек и его здоровье*. 2013;1:48–51. [Doncov A.V. Effektivnost' dalargina v korrekcii citokinovogo prophilya u bol'nih IBS i metabolicheskym sindromom [Efficacy of dalargin in the correction of cytokine profile in patients with CHD and metabolic syndrome]. *Chelovek i ego zdorovye [Man and his health]*. 2013;1:48–51. (In Russian)].
8. Каркищенко В.Н., Помыткин И.А., Гасанов М.Т., Нестеров М.С., Фокин Ю.В., Табоякова Л.А., Алимкина О.В., Хвостов Д.В. Лейтрагин повышает выживаемость животных в модели фатального острого респираторного дистресс-синдрома при профилактическом и лечебном режимах введения. *Биомедицина*. 2020;16(4):44–51. [Karkishchenko V.N., Pomytkin I.A., Gasanov M.T., Nesterov M.S., Fokin Yu.V., Taboyakova L.A., Alimkina O.V., Khvostov D.V. Lejtragin povyshayet vyzhivaemost' zhivotnyh v modelifatal'nogo ostrogo respiratornogo distress-sindroma pri profilaktiches-

- kom i lechebnom rezhimakh vvedeniya [Leutragine increases the survival rate of animals in a model of fatal acute respiratory distress syndrome with preventive and therapeutic modes of administration]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2020;16(4):44–51. (In Russian)].
- Каркищенко В.Н., Помыткин И.А., Гасанов М.Т., Степанова О.И., Клёсов Р.А., Огнева Н.С., Савченко Н.С., Скворцова В.И. Сочетанное применение лейтрагина и лёгочного сурфактанта-БЛ повышает выживаемость животных в модели фатального острого респираторного дистресс-синдрома. *Биомедицина*. 2020;16(4):52–59. [Karkischenko V.N., Pomytkin I.A., Gasanov M.T., Stepanova O.I., Klesov R.A., Ogneva N.S., Savchenko E.S., Skvortsova V.I. Sochetannoe primenenie leytragina i legochnogo surfaktanta-BL povyshayet vyzhivaemost' zhivotnykh v modeli fatal'nogo ostrogo respiratornogo distress-sindroma [The combined use of leutragine and pulmonary surfactant-BL increases animal survival in a model of fatal acute respiratory distress syndrome]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2020;16(4):52–59. (In Russian)].
  - Каркищенко В.Н., Помыткин И.А., Петрова Н.В., Нестеров М.С., Агельдинов Р.А., Зотова Л.В., Колоскова Е.М., Слободенюк В.В., Скворцова В.И. Лейтрагин подавляет экспрессию цитокинов, включая интерлейкин-6, в модели «цитокинового шторма» у мышей линии C57BL/6Y с индуцированным острым респираторным дистресс-синдромом. *Биомедицина*. 2020;16(4):34–43. [Karkischenko V.N., Pomytkin I.A., Petrova N.V., Nesterov M.S., Ageldinov R.A., Zotova L.V., Koloskova E.M., Slobodenyuk V.V., Skvortsova V.I. Leytragin podavlyayet ekspressiyu citokinov, vlyuchaya interlejkin-6, v modeli «citokinovogo shtorma» u myshey linii C57BL/6Y s inducirovannym ostrym respiratornym distress-sindromom [Leutragin Inhibits Expression of Cytokines, Including Interleukin-6, in a “Cytokine Storm” Model in C57BL/6Y Mice with Induced Acute Respiratory Distress Syndrome]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2020;16(4):34–43. (In Russian)].
  - Каркищенко В.Н., Помыткин И.А., Скворцова В.И. Опиоидэргическая система иммунных клеток: новая фармакологическая мишень в терапии «цитокинового шторма». *Биомедицина*. 2020;16(4):14–23. [Karkischenko V.N., Pomytkin I.A., Skvortsova V.I. Opioidergicheskaya sistema immunnih kletok: novaya farmakologicheskaya sistema immunnih kletok: novaya farmakologicheskaya mishen' v terapii «citokinovogo shtorma» [The Opioidergic System of Immune Cells: A New Pharmacological Target in the Therapy of “Cytokine Storm”]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2020;16(4):14–23. (In Russian)].
  - Маслов Л.Н., Лишманов Ю.Б., Барзах Е.И., Максимов И.В., Ворожцова И.Н., Буховец И.Л., Минин С.М., Орлова Е.Б., Лавров А.Г., Овчинников М.В. Кардиоваскулярные эффекты D-Ala2, Leu5, Arg6-энкефалина (даларгин) связаны с активацией периферических опиоидных  $\mu$ -рецепторов. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2008;71(2):21–28. [Maslov L.N., Lishmanov Iu.B., Barzakh E.I., Maksimov I.V., Vorozhtsova I.N., Bukhovets I.L., Minin S.M., Orlova E.B., Lavrov A.G., Ovchinnikov M.V. Kardiovaskulyarnie effekti D-Ala2, Leu5, Arg6-enkephalina (dalargin) svyazani s aktivatsiyey perefericheskikh opioidnih  $\mu$ -receptorov [Cardiovascular effects of D-ALA2, LEU5, ARG6-enkephalin (dalargin) are mediated by peripheral mu-opioid receptor activation]. *Experimental and clinic pharmacology*. 2008;71(2):21–28. (In Russian)].
  - Огнева Н.С., Таболякова Л.А., Алимкина О.В., Петрова Н.В. Ингаляционное введение препарата Лейтрагин мышам линии C57BL/6Y в модели ОРДС повышает уровень экспрессии гена SIRT1. *Биомедицина*. 2023;19(3):36–41. [Ogneva N.S., Taboyakova L.A., Alimkina O.V., Petrova N.V. Ingalyatsionnoe vvedeniye preparata Leytragin mysham linii C57BL/6Y v modeli ORDS povishaet uroven' ekspessii gena SIRT1 [Inhalation Administration of Leytragin to C57BL/6Y Mice in an ARDS Model Increases the Expression Level of SIRT1 Gene]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2023;19(3):36–41. (In Russian)].
  - Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая*. Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012:944. [*Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one]*. Ed. by A.N. Mironov. Moscow: Grif i K Publ., 2012:944. (In Russian)].
  - Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. Под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль-2С, 2010:358. [*Rukovodstvo po laboratornym zivotnym i al'ternativnym modelyam v biomeditsinskikh issledovaniyakh [A Guide to Laboratory Animals and Alternative Models in Biomedical Research]*. Ed. by N.N. Karkischenko, S.V. Grachev. Moscow: Profil'-2С, 2010:358. (In Russian)].
  - Титов М.И., Виноградов В.А., Беспалова Ж.Д. Даларгин — пептидный препарат с цитопротективным действием. *Бюллетень Всесоюзного кардиологического научного центра АМН СССР*. 1985;2:72–76. [Titov M.I., Vinogradov V.A., Bepalova Zh.D. Dalargin — peptidniy preparat s cytoprotectivnim deystviem [Dalargin — a peptide preparation with cytoprotective action]. *Bulleten' Vsesoyuznogo kardiologicheskogo nauchnogo tsentra AMN SSSR [Bulletin of the All-Union Cardiological Scientific Center of the USSR Academy of Medical Sciences]*. 1985;2:72–76 (In Russian)].
  - Украинская А.А., Васильева Л.С. Коррекция даларгином и а-токоферолом стресс-индуцированных нарушений структуры лёгких. *Байкальский медицинский журнал*. 2002;30(1):34–38. [Ukrainskaya A.A., Vasil'eva L.S. Korrekciya dalarginom i a-tokoferolom stress-inducirovannyh narusheniy strukturi legkih [Correction by dalargin and a-tocopherol of stress-induced lung structure abnormalities]. *Baikal Medical Journal*. 2002;30(1):34–38 (In Russian)].



**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS**

---

**Огнева Настасья Сергеевна\***, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;  
**e-mail: [ognevanastya@mail.ru](mailto:ognevanastya@mail.ru)**

**Nastasya S. Ogneva\***, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail: [ognevanastya@mail.ru](mailto:ognevanastya@mail.ru)**

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

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

**Хвостов Даниил Владиславович**, к.т.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;  
**e-mail: [daniil\\_hvostov@mail.ru](mailto:daniil_hvostov@mail.ru)**

**Daniil V. Khvostov**, Cand. Sci. (Tech.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail: [daniil\\_hvostov@mail.ru](mailto:daniil_hvostov@mail.ru)**

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

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

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

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

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## МОДИФИЦИРОВАННЫЙ ЭФФЕКТ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА СПОНТАННУЮ ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ САМЦОВ КРЫС В УСЛОВИЯХ СВЕТОВОГО ДЕСИНХРОНОЗА

А.В. Шарабанов<sup>1,\*</sup>, Е.Г. Батоцыренова<sup>2,3</sup>, В.А. Кашуро<sup>3,4,5</sup>, М.Т. Гасанов<sup>1</sup>,  
Н.В. Кузьмина<sup>3</sup>, К.М. Щепеткова<sup>3</sup>

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

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

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический  
медицинский университет» Минздрава России  
194100, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

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

<sup>5</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»  
199034, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

В данном исследовании изучалось влияние экстрактов пептидной природы из эпифиза-гипофиза северного оленя (*Rangifer tarandus*) и дельта-сон индуцирующего пептида, имитируя модифицированное высвобождение препаратов, на спонтанную двигательную активность самцов крыс в условиях светового десинхроноза. Показано изменение спонтанной двигательной активности при действии экстрактов пептидной природы и дельта-сон индуцирующего пептида при полярных световых режимах: постоянное освещение — увеличение активности, постоянная темнота — уменьшение активности, обычное освещение — отличается увеличением активности у экстрактов пептидной природы. Такой способ фармакологической настройки циркадианных осцилляторов организма средствами пептидной природы с модифицированным высвобождением может быть использован для разработки схемы коррекции светового десинхроноза.

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

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

**Для цитирования:** Шарабанов А.В., Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Гасанов М.Т., Кузьмина Н.В., Щепеткова К.М. Модифицированный эффект пептидных препаратов на спонтанную двигательную активность самцов крыс в условиях светового десинхроноза. *Биомедицина*. 2024;20(1):33–42. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-33-42>

Поступила 29.01.2024

Принята после доработки 28.02.2024

Опубликована 10.03.2024

## MODIFIED EFFECT OF PEPTIDE PREPARATIONS ON SPONTANEOUS MOTOR ACTIVITY IN MALE RATS UNDER THE CONDITIONS OF LIGHT DESYNCHRONOSIS

Andrey V. Sharabanov<sup>1,\*</sup>, Ekaterina G. Batotsyrenova<sup>2,3</sup>, Vadim A. Kashuro<sup>3,4,5</sup>,  
Melik T. Gasanov<sup>1</sup>, Natalya V. Kuzmina<sup>3</sup>, Kristina M. Shchepetkova<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup> Golikov Research Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia  
192019, Russian Federation, Saint Petersburg, Bekhtereva Str., 1

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

<sup>4</sup> Herzen State Pedagogical University of Russia  
191186, Russian Federation, Saint Petersburg, Moika River Embankment, 48

<sup>5</sup> Saint Petersburg State University  
199034, Russian Federation, Saint Petersburg, University Embankment, 7/9

This study examined the effect of peptide extracts from the epiphysis-pituitary gland of Reindeer (*Rangifer tarandus*) and a delta sleep-inducing peptide, simulating a modified release of drugs, on the spontaneous motor activity of male rats under the conditions of light desynchronization. The study revealed changes in spontaneous motor activity under the influence of extracts of a peptide nature and a delta sleep-inducing peptide under the following polar light regimes. Under the conditions of constant lighting and constant darkness, an increase and a decrease in activity was observed, respectively. Under normal lighting, peptide extracts showed increased efficacy. This method of pharmacological adjustment of the body's circadian oscillators using modified-release peptides can be used to develop a scheme for correcting light desynchronization.

**Keywords:** peptide extracts, modified action, light desynchronization, bioactive peptides of the pineal gland and pituitary gland, pharmacological correction

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

**For citation:** Sharabanov A.V., Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Gasanov M.T., Kuzmina N.V., Shchepetkova K.M. Modified Effect of Peptide Preparations on Spontaneous Motor Activity in Male Rats under the Conditions of Light Desynchronization. *Journal Biomed.* 2024;20(1):33–42. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-33-42>

Submitted 29.01.2024

Revised 28.02.2024

Published 10.03.2024

### Введение

Широкое использование электрического света и, как следствие, значительное освещение в ночное время являются важными факторами, влияющими как на людей, так и на животных впервые в истории эволюции живых организмов. Свет в ночное время нарушает синтез мелатонина и, следова-

тельно, временную адаптацию. Нарушение циркадных ритмов является фактором риска развития физиологических и поведенческих нарушений, в т.ч. метаболических, психических заболеваний [7].

Экспериментальное моделирование эффекта смены часовых поясов на лабораторных животных показало повышение

уровня тревожности и депрессивного поведения, ухудшение долговременной памяти и когнитивных способностей, пространственную дезориентацию. Таким образом, изменение поведения и когнитивных способностей животных было вызвано световым десинхронозом [8].

Состояние десинхроноза характеризуется как состояние поиска адаптации. В результате воздействия внешнего фактора — изменения светового режима в течение длительного времени — развивается фенотипическая адаптация, т.е. реализуется генотип в определенных условиях среды. Многие исследования документально подтвердили пластичность признака по отношению к вариациям множества факторов окружающей среды [10].

Одним из методов интегральной оценки врождённых реакций адаптационного резерва организма является двигательная и исследовательская активность животных в новой ситуации. Мысленные представления о событиях и связях между ними являются приобретёнными и могут быть использованы в «нужный момент» и в отсутствие подкрепления [3, 4].

В данной работе были использованы возобновляемые источники — экстракты пептидной природы (ЭПП) из сырья (эпифиз, гипофиз) от арктического вида Северного оленя (*Rangifer tarandus tarandus*), который перестаёт производить ритмичный сигнал мелатонина, когда он подвергается длительным периодам непрерывной зимней темноты и непрерывного летнего света. Это может свидетельствовать, о том, что у животных, адаптированных к данному режиму освещения, есть определенные механизмы, где периоды изменения концентрации мелатонина могут действовать как околосуточные синхронизаторы [6].

Обзор литературы по применению препарата выбора при коррекции светового десинхроноза — экзогенного мелатонина — показал, что остаются большие про-

белы в его потенциальном использовании в качестве терапии; кроме того, его эффективность неясна. Также важно отметить, что эффекты воздействия экзогенного мелатонина зависят от возраста, пола, расы, способа и времени введения, дозы и связи с некоторыми веществами (например, табаком или противозачаточными таблетками), а также подтипа циркадианного нарушения. В качестве новых терапевтических средств наиболее перспективными остаются биоактивные пептиды, учитывая привлекательный фармакологический профиль, их свойства, а также незначительную сложность технологических процессов получения из тканей животных в сравнении с традиционными фармацевтическими препаратами — в частности, важен фармакологический поиск среди экстрактов мозговых придатков, отвечающих за циркадианные ритмы [1, 9].

Исходя из того что препараты выбора при коррекции светового десинхроноза зависят от многих факторов, в т.ч. от времени введения, нами была разработана технология, которая позволяет последовательно высвобождать разные субстанции в различные временные промежутки для восстановления синхронности естественных суточных ритмов [5].

В связи с чем **целью** данного исследования явилось изучение влияния ЭПП из эпифиза-гипофиза Северного оленя (*Rangifer tarandus*) и дельта-сон индуцирующего пептида (ДСИП), имитируя модифицированное высвобождение препаратов, на двигательную активность (СДА) самцов крыс при световом десинхронозе.

## Материалы и методы

Моделирование светового десинхроноза выполнялось на двухмесячных лабораторных белых беспородных крысах-самцах массой  $180 \pm 20$  г в количестве 144 особей. Животные методом рандомизации были разделены на три основные группы: I груп-

па — контрольная, в которой моделировался режим обычного освещения (светодиодное освещение 500 лк день/ночь 12/12); II группа содержалась в режиме постоянного освещения; III группа содержалась в режиме постоянной темноты. Формирование светового десинхроноза осуществлялось в течение 30 дней, в течение которых первые 14 дней крысам вводили исследуемые вещества, по 10 мкл на особь, интраназально. Экспериментальные животные получали: ЭПП в дозе 10 мкг/кг (1-я доза — терапевтическая); ЭПП в дозе 100 мкг/кг (2-я доза — десятикратная); ДСИП в дозе 100 мкг/кг в качестве препарата сравнения. Контрольные (интактные) животные получали физ. р-р в эквивалентном количестве. Изучаемые субстанции и плацебо вводили последовательно в 11<sup>00</sup> и 12<sup>00</sup>, имитируя пролонгированность модифицированного высвобождения действующих веществ. Технология получения и применения ЭПП подробно описана в предыдущих работах [1, 2, 5].

Тест на СДА представляет собой автоматическую систему, к которой через USB-порт подключается квадратная камера для животных с прозрачными пластмассовыми боковыми стенками, дном и крышкой (54×50×37 см). Характер и количество движений отмечает регистратор с помощью двух наборов ИК-излучателей/датчиков для горизонтальной и вертикальной активности. Движения животного внутри клетки прерывают один или несколько инфракрасных лучей. Прерывания луча подсчитывается и регистрируется внутренней памятью электронного блока интерфейса с помощью программного обеспечения к данной установке (“Ugo Basile”, Италия).

### Результаты и их обсуждение

Незнакомая среда запускает сложный набор поведенческих реакций у животных, отражающих тревожность и стремление исследовать новую территорию. Текущее поведение животного в тесте СДА с горизонтальными и вертикальными датчиками определяется соотношением оборони-



**Рис. 1.** Влияние введения препаратов ЭПП и ДСИП на СДА крыс-самцов при режиме «обычное освещение» ( $M \pm m$ ),  $n=12$ , 14 дней введения.

**Fig. 1.** Administration effects of peptide extracts (PE) and delta sleep-inducing peptide (DSIP) on the spontaneous motor activity (SMA) in male rats in the “regular lighting” mode ( $M \pm m$ ),  $n=12$ , 14 days of administration.

тельных и исследовательских тенденций. Яркое освещение или постоянная темнота при этом является для крыс дополнительным стрессорным фактором.

Влияние введения препаратов ЭПП и ДСИП в течение первых 14 дней воздействия светового десинхроноза на СДА крыс, которая выражалась горизонтальными

и вертикальными движениями, представлена на рис. 1–3.

В условиях обычного освещения статистически значимые изменения СДА при использовании ЭПП в двух дозах и ДСИП при курсовом введении отсутствовали (рис. 1).

Из представленных данных следует, что через 2 недели курсового введения

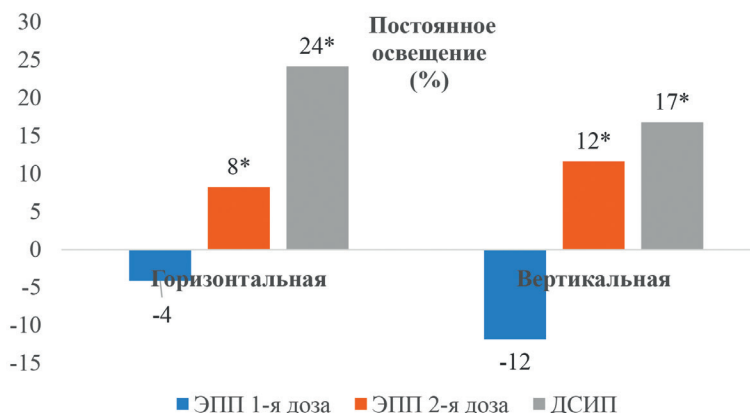


Рис. 2. Влияние введения препаратов ЭПП и ДСИП на СДА крыс-самцов при режиме «постоянное освещение» ( $M \pm m$ ),  $n=12$ , 14 дней введения. \* —  $p < 0,05$ .

Fig. 2. Administration effects of PE and DSIP on SMA in male rats in the “constant lighting” mode ( $M \pm m$ ),  $n=12$ , 14 days of administration. \* —  $p < 0.05$ .

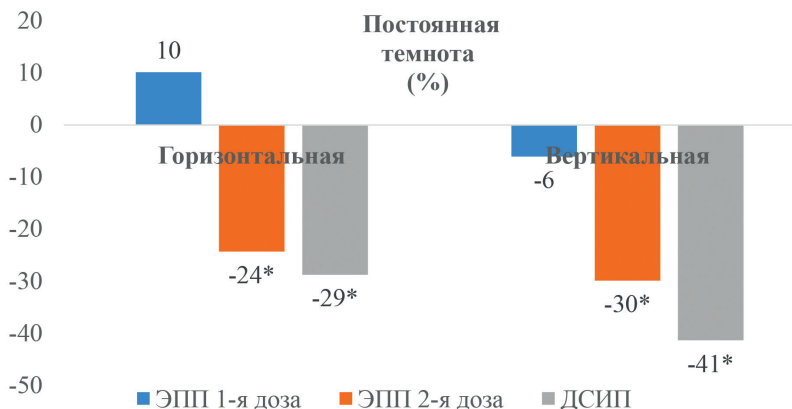


Рис. 3. Влияние введения препаратов ЭПП и ДСИП на СДА крыс-самцов при режиме «постоянная темнота» ( $M \pm m$ ),  $n=12$ , 14 дней введения. \* —  $p < 0,05$ .

Fig. 3. Administration effects of PE and DSIP on SMA in male rats under the “constant darkness” regime ( $M \pm m$ ),  $n=12$ , 14 days of administration. \* —  $p < 0.05$ .



в условиях светового десинхрониза в группе «постоянное освещение», в подгруппе животных, получавших 1-ю дозу ЭПП, наблюдалась статистически недостоверная тенденция к снижению горизонтальной и вертикальной СДА крыс. 2-я доза ЭПП статистически значимо увеличивала у крыс горизонтальную СДА на 8%, а ДСИП — на 24%; вертикальную СДА — на 12 и 17% соответственно по сравнению с контрольной группой (рис. 2).

В группе «постоянная темнота» после курсового 14-дневного введения изучаемых веществ в подгруппе животных, получавших 1-ю дозу ЭПП, наблюдалось разнонаправленное статистически недостоверное влияние на показатели горизонтальной и вертикальной СДА. В подгруппах, получавших 2-ю дозу ЭПП и ДСИП, отмечалось статистически достоверное снижение горизонтальной СДА на 24% (2-я доза ЭПП) и на 29% (ДСИП), при этом значения вертикальной СДА уменьшались на 30 и 41% соответственно по сравнению с контролем (рис. 3).

Влияние введения препаратов ЭПП и ДСИП на СДА крыс при различных световых режимах через 14 дней после прекращения курсового введения отражено на рис. 4–6.

В группе «обычное освещение» через 14 дней после прекращения введения исследуемых препаратов у животных, получавших 2-ю дозу ЭПП, сохранялись достоверно повышенные горизонтальная и вертикальная СДА — на 45 и 48% соответственно. В случае ДСИП и 1-й дозы ЭПП подобные изменения СДА отсутствовали (рис. 4).

Через 2 недели после окончания курсового введения в группе «постоянное освещение» для 1-й дозы ЭПП эффект отсутствовал. В подгруппе животных, получавших 2-ю дозу ЭПП, сохранялось достоверное увеличение горизонтальной СДА на 38%. Для ДСИП этот показатель составил 56%. Вертикальная СДА сохранялась повышенной в подгруппе со 2-й дозой ЭПП на 81% и в подгруппе ДСИП — на 84% соответственно по сравнению с контролем (рис. 5).



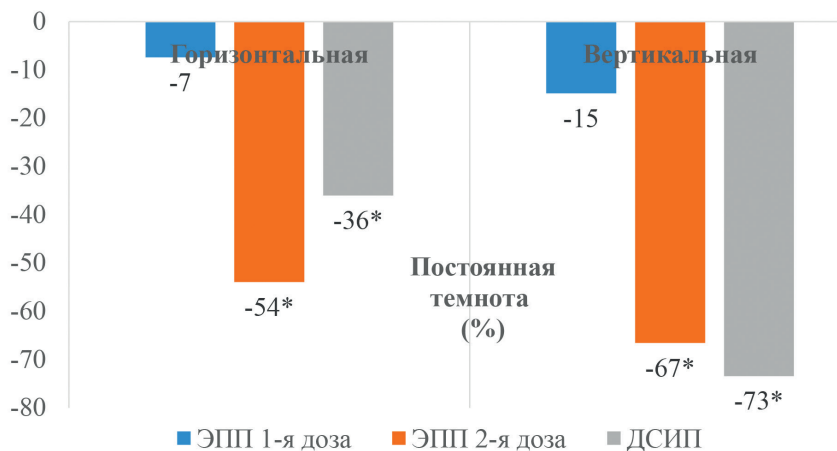
**Рис. 4.** Влияние введения препаратов ЭПП и ДСИП на СДА крыс-самцов при режиме «обычное освещение» через 14 дней после прекращения курсового введения ( $M \pm m$ ),  $n=12$ . \* —  $p < 0,05$ .

**Fig. 4.** Administration effects of PE and DSIP on the SMA in male rats in the “regular lighting” mode 14 days after completing administration ( $M \pm m$ ),  $n=12$ . \* —  $p < 0,05$ .



**Рис. 5.** Влияние введения препаратов ЭПП и ДСИП на СДА крыс-самцов при режиме «постоянное освещение» через 14 дней после прекращения курсового введения ( $M \pm m$ ),  $n=12$ . \* —  $p < 0,05$ .

**Fig. 5.** Administration effects of PE and DSIP on the SMA in male rats in the “constant lighting” mode 14 days after completing administration ( $M \pm m$ ),  $n=12$ . \* —  $p < 0.05$ .



**Рис. 6.** Влияние введения препаратов ЭПП и ДСИП на СДА крыс-самцов при режиме «постоянная темнота» через 14 дней после прекращения курсового введения ( $M \pm m$ ),  $n=12$ . \* —  $p < 0,05$ .

**Fig. 6.** Administration effects of PE and DSIP on SMA in male rats in the “constant darkness” mode 14 days after completing administration ( $M \pm m$ ),  $n=12$ . \* —  $p < 0.05$ .

В группе «постоянная темнота» через 14 дней после окончания курсового введения изучаемых препаратов 1-я доза ЭПП не оказывала статистически значимого влияния на показатели горизонтальной и вертикальной СДА. В подгруппах живот-

ных, получавших 2-ю дозу ЭПП и ДСИП, сохранялось достоверное снижение горизонтальной СДА крыс на 54 и на 36%, а вертикальной СДА — на 67 и 73% соответственно (рис. 6).

Через 2 недели после окончания курсового введения крысам-самцам в условиях светового десинхроноза 2-я доза ЭПП проявила пролонгированное действие при разных режимах освещения.

Таким образом, в результате проведенного исследования было установлено, что препарат ЭПП во 2-й дозе, вводимый 14 дней, сохраняет свои эффекты на горизонтальную и вертикальную СДА ещё в течение двух недель после завершения курса, т.е. обладает пролонгированным действием вне зависимости от режима освещения, что позволяет сделать заключение о различных молекулярных механизмах воздействия этого пептидного препарата на клетки органов-мишеней. Данный способ фармакологической настройки циркадианных осцилляторов организма средствами пептидной природы может быть использован для разработки схемы коррекции светового десинхроноза в виде препарата с модифицированным высвобождением.

## Выводы

1. После 14-дневного курса интраназального введения крысам в режиме «обычное освещение» ЭПП во 2-й дозе вызывает достоверное увеличение горизонтальной СДА на 31% и вертикальной СДА на 37%.

2. После 14-дневного курса интраназального введения крысам в условиях светового десинхроноза в режиме «постоянное освещение» ЭПП во 2-й дозе вызывает статистически значимое увеличение горизонтальной СДА на 8% и вертикальной — на 12%, а ДСИП — на 24 и 17% соответственно. В режиме «постоянная темнота» ЭПП во 2-й дозе вызывает, наоборот, статистически значимое снижение го-

ризонтальной СДА на 24% и вертикальной СДА на 30%. После окончания курсового введения ДСИП снижение горизонтальной и вертикальной СДА составили 29 и 41% соответственно по сравнению с контролем.

3. Через 2 недели после окончания курсового интраназального введения в режиме «обычное освещение» в подгруппе крыс, получавших ЭПП во 2-й дозе, сохранялось достоверное увеличение горизонтальной СДА на 45% и вертикальной СДА — на 48%.

4. Через 2 недели после окончания курсового интраназального введения (сформированный световой десинхроноз) в режиме «постоянное освещение» в подгруппе животных, получавших ЭПП во 2-й дозе, сохранялось достоверное увеличение горизонтальной СДА на 38% и вертикальной СДА — на 81%. Для подгруппы крыс, которым вводился ДСИП, эти показатели составили 56 и 84% соответственно.

5. Через 2 недели после окончания курсового интраназального введения (сформированный световой десинхроноз) в режиме «постоянная темнота» в подгруппе животных, получавших ЭПП во 2-й дозе, сохранялось достоверное снижение горизонтальной СДА на 54% и вертикальной СДА — на 67%. Для подгруппы крыс, которым вводился ДСИП, эти показатели составили 36 и 73% соответственно.

6. Установлен однозначный характер изменений СДА при действии 2-й дозы ЭПП и препарата сравнения ДСИП при полярных световых режимах: в режиме «постоянное освещение» — увеличение показателей горизонтальной и вертикальной активности, а в режиме «постоянная темнота» — их снижение.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Шарабанов А.В., Козлов В.К., Коваленко А.Л. Эффективность пептидного продукта из гипофиза северного оленя в качестве антиоксидантного средства при сочетанном воздействии светового десинхроноза и депри-

мирующего токсиканта. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021;66(7–8):20–29. [Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Sharabanov A.V., Kozlov V.K., Kovalenko A.L. Effektivnost' peptidnogo produkta iz gipofiza severnogo olenya v kachestve antioksidant-

- nogo sredstva pri sochetannom vozdeystvii svetovogo desinchronozha i depriimiruyushchego toksikanta [The effectiveness of a peptide product from the pituitary gland of reindeer as an antioxidant agent under the combined effects of light desynchronization and a depressant toxicant]. *Antibiotics and chemotherapy*. 2021;66(7–8):20–29. (In Russian). doi: 10.37489/0235-2990-2021-66-7-8-20-29.
2. Батоцыренова Е.Г., Мельникова М.В., Бельская А.В., Иванов Д.О., Кашуро В.А., Красникова Е.Н., Шарабанов А.В. Влияние пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя на когнитивные функции крыс при изменении светового режима. *Педагогика*. 2023;14(3):87–96. [Batotsyrenova E.G., Melnikova M.V., Belskaya A.V., Ivanov D.O., Kashuro V.A., Krasnikova E.N., Sharabanov A.V. Vliyaniye peptidnogo ekstrakta iz gipofiza Severnogo olenya na kognitivnyye funktsii krysv pri izmenenii svetovogo rezhima [The effect of a peptide extract from the pituitary gland of Reindeer on the cognitive functions of rats when changing the light regime]. *Pediatrician*. 2023;14(3):87–96. (In Russian). doi: 10.17816/PED14387-96.
  3. Бериташвили И.С. *Память позвоночных животных, ее характеристика и происхождение*. М.: Наука, 1974:186. [Beritashvili I.S. *Pamyat' pozvonochnykh zhivotnykh, ee harakteristika i proiskhozhdenie* [Memory of vertebrates, its characteristics and origin]. Moscow: Nauka Publ., 1974:186. (In Russian)].
  4. Крушинский Л.В. *Биологические основы рациональной деятельности*. М.: Изд-во МГУ, 1986:271. [Krushinsky L.V. *Biologicheskije osnovy rassudochnoj deyatel'nosti* [Biological foundations of rational activity]. Moscow: MGU Publ., 1986:271.
  5. Шарабанов А.В., Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Гасанов М.Т., Комов Ю.В. Антиоксидантный эффект экстрактов пептидной природы с модифицированным высвобождением при световом десинхронозе. *Биомедицина*. 2022;18(3):50–57. [Sharabanov A.V., Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Gasanov M.T., Komov Yu.V. Antioksidantnyj effekt ekstraktov peptidnoj prirody s modifitsirovannym vysvobozhdeniem pri svetovom desinchronoze [Antioxidant effect of peptide extracts with modified release in light desynchronization]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2022;18(3):50–57. doi: 10.33647/2074-5982-18-3-50-57.
  6. Hazlerigg D., Blix A.S., Stokkan K.A. Waiting for the Sun: the circannual programme of reindeer is delayed by the recurrence of rhythmical melatonin secretion after the arctic night. *J. Exp. Biol.* 2017;220(Pt 21):3869–3872. doi: 10.1242/jeb.163741.
  7. Nelson R.J., Chbeir S. Dark matters: effects of light at night on metabolism. *Proc. Nutr. Soc.* 2018;77(3):223–229. doi: 10.1017/S0029665118000198.
  8. Osikov M.V., Ogneva O.I. Relationship between the change of ethological status and concentration of certain cytokines in blood in experimental desynchronization under led lighting. *Pathol. Physiol. Exp. Ter.* 2016;60(4):93–100.
  9. Vasey C., McBride J., Penta K. Circadian Rhythm Dysregulation and Restoration: The Role of Melatonin. *Nutrients*. 2021;13(10):3480. doi: 10.3390/nu13103480.
  10. Westneat D.F., Potts L.J., Sasser K.L., Shaffer J.D. Causes and Consequences of Phenotypic Plasticity in Complex Environments. *Trends Ecol. Evol.* 2019;34(6):555–568. doi: 10.1016/j.tree.2019.02.010.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Шарабанов Андрей Вячеславович\***, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;  
e-mail: [avsharabanov@gmail.com](mailto:avsharabanov@gmail.com)

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

**Andrey V. Sharabanov\***, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
e-mail: [avsharabanov@gmail.com](mailto:avsharabanov@gmail.com)

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

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

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

**Гасанов Мелик Тофикович**, к.м.н., доц., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;

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

**Кузьмина Наталья Владиленовна**, к.х.н., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России;

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

**Щепеткова Кристина Михайловна**, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России;

**e-mail:** [tesh\\_07@inbox.ru](mailto:tesh_07@inbox.ru)

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

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

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

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

**Natalya V. Kuzmina**, Cand. Sci. (Chem.), St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;

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

**Kristina M. Shchetkova**, Saint Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;

**e-mail:** [tesh\\_07@inbox.ru](mailto:tesh_07@inbox.ru)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ ПРЕПАРАТОВ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОГО ТИПА ДЕЙСТВИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОЛОГИЧЕСКОГО ТЕСТ-ОБЪЕКТА — ЗООГИДРОБИОНТОВ *DAPHNIA MAGNA STRAUS*

А.А. Бондаренко<sup>1,2,\*</sup>, Т.Л. Горчакова<sup>1</sup>, А.Я. Беспалов<sup>1</sup>,  
Л.И. Прокопенко<sup>1</sup>, П.Д. Шабанов<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»  
197376, Российская Федерация, Санкт-Петербурге, ул. Академика Павлова, 12

В работе представлены результаты первичного фармакологического скрининга холиноблокаторов и сравнительная оценка их специфической активности в эквитоксических концентрациях с использованием биологического тест-объекта — зоогидробионтов *Daphnia magna Straus*. Определяли индекс защиты и минимальную эффективную концентрацию по предотвращению атипичной двигательной гиперактивности фармакологических веществ при отравлении обратимым ингибитором ацетилхолинэстеразы. На основании представленных результатов в перечень перспективных кандидатов для дальнейшего исследования на теплокровных животных попали все холиноблокаторы, отобранные ранее в экспериментах на млекопитающих.

**Ключевые слова:** холинергические препараты, холиноблокаторы, обратимые ингибиторы ацетилхолинэстеразы, фармакологический скрининг, первичные тест-объекты, *Daphnia magna Straus*

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

**Для цитирования:** Бондаренко А.А., Горчакова Т.Л., Беспалов А.Я., Прокопенко Л.И., Шабанов П.Д. Фармакологический скрининг препаратов холинергического типа действия с использованием биологического тест-объекта — зоогидробионтов *Daphnia magna Straus*. *Биомедицина*. 2024;20(1): 43–51. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-43-51>

Поступила 29.09.2023

Принята после доработки 20.02.2024

Опубликована 10.03.2024

## PHARMACOLOGICAL SCREENING OF CHOLINERGIC DRUGS USING *DAPHNIA MAGNA STRAUS* HYDROBIONTS AS A BIOLOGICAL TEST OBJECT

Anastasiya A. Bondarenko<sup>1,2,\*</sup>, Tat'jana L. Gorchakova<sup>1</sup>, Aleksandr Ya. Bepalov<sup>1</sup>,  
Ljubov' I. Prokopenko<sup>1</sup>, Petr D. Shabanov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia  
192019, Russian Federation, Saint Petersburg, Behtereve Str., 1

<sup>2</sup> Institute of Experimental Medicine  
197376, Russian Federation, Saint Petersburg, Akademika Pavlova Str., 12

This work presents the results of primary pharmacological screening of anticholinergic drugs and comparative evaluation of their specific activity in equitoxic concentrations using *Daphnia magna Straus* hydro-



bionts as a biological test object. We determine the protective index and the minimum effective concentration in terms of preventing atypical motor hyperactivity of pharmacological substances when poisoning with a reversible acetylcholinesterase inhibitor. On the basis of the results obtained, the list of promising candidates for further research in warm-blooded animals is extended by all of the anticholinergic drugs previously selected in experiments on mammals.

**Keywords:** cholinergic drugs, anticholinergic drugs, reversible acetylcholinesterase inhibitors, pharmacological screening, primary test objects, *Daphnia magna Straus*

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

**For citation:** Bondarenko A.A., Gorchakova T.L., Bespalov A.Ya., Prokopenko L.I., Shabanov P.D. Pharmacological Screening of Cholinergic Drugs Using *Daphnia magna Straus* Hydrobionts as a Biological Test Object. *Journal Biomed.* 2024;20(1):43–51. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-43-51>

Submitted 29.09.2023

Revised 20.02.2024

Published 10.03.2024

## Введение

Фармакологический скрининг заключается в экспериментальном выявлении фармакологической активности препаратов с помощью чувствительных методов *in vitro* или *in vivo* (в т.ч. с использованием первичных тест-систем). При целенаправленном поиске соединений осуществляют скрининг с применением строго определённого набора тестов для оценки каждого класса веществ. Выбор тест-системы для скрининга производят исходя из предполагаемой фармакологической активности вещества. Для первичного скрининга фармакологических веществ холинергического типа действия можно использовать зоогидробиев *Daphnia magna Straus* благодаря наличию у них холинергической медиаторной системы и холинорецепторов [16, 18]. С помощью такого отбора сокращается количество используемых теплокровных животных в экспериментальных исследованиях, что оправдано с биоэтической и экономической точек зрения [2, 21].

В настоящее время в экотоксикологических исследованиях с использованием дафний, как правило, применяются тесты по определению токсичности химических веществ, основанные на летальности или угнетении репродуктивной функции [4, 5]. Детальный анализ строения и биоло-

гических функций дафний позволяет различать их физиологические тест-функции, такие как: скорость плавания, пройденное расстояние, частота прыжков, частота сердечных сокращений, частота приёма пищи и потребление кислорода, что также может быть полезно при оценке токсических эффектов [25]. Кроме того, эффекты тестируемых препаратов на дафний можно оценить с помощью ферментативных (холинэстераза, каталаза, супероксиддисмутаза и др.) и неферментативных (глюкоза, аминокислоты, липиды) биомаркеров [22, 23].

Преимущество поведенческих, физиологических и биохимических параметров заключается в возможности наблюдать сублетальные эффекты, вызванные более низкими концентрациями фармакологических веществ, которые невозможно полностью оценить с помощью тестов острой и хронической токсичности.

Активность плавания является чувствительным биомаркером воздействия химических веществ на дафний, который легко наблюдать во время тестов. Этот параметр включает в себя гиперактивность, нормальную активность, угнетение активности, отсутствие способности плавать и неподвижность [23]. Т.к. у дафний поведенческие реакции контролируются нервной системой, воздействие нейротропных веществ приво-

дит к изменению плавательной активности. Следовательно, эти зоогидробионты могут быть использованы в качестве биологической модели для проверки эффективности нейротропных препаратов [25].

Дополнительные преимущества дафний для биотестирования также заключаются в удобстве их разведения в лабораторных условиях, генетической однородности синхронизированной культуры, коротком жизненном цикле и высокой чувствительности ко многим химическим веществам.

Наличие изученной холинергической медиаторной системы, а также одинаковое сродство холинорецепторов дафний и млекопитающих к неселективным холиноблокаторам (ХБ) позволяет производить первичный отбор препаратов холинергического типа действия на зоогидробионтах *Daphnia magna Straus* [16, 18]. При отравлении дафний холинергическими агонистами защитное действие оказывают их антагонисты [19, 20]. Под воздействием обратимых ингибиторов ацетилхолинэстеразы (ОИ АХЭ) у дафний возникает атипичная двигательная гиперактивность, эквивалентная выраженному судорожному состоянию у теплокровных животных, что позволяет проводить первичный отбор потенциальных противосудорожных препаратов по критерию предотвращения наступления атипичной двигательной гиперактивности (АДГА) [3, 7, 12, 24].

При исследовании новых препаратов также имеет значение тот факт, что для экспериментов на дафниях требуется меньшее количество тестируемого вещества.

**Целью** настоящей работы являлся первичный фармакологический скрининг с использованием биологического тест-объекта — зоогидробионтов *Daphnia magna Straus* для веществ холиноблокирующего типа действия и сравнительная оценка их специфической активности в эквитоксических концентрациях.

## Материалы и методы

Эксперименты были поставлены на зоогидробионтах *Daphnia magna Straus*, выращенных в лабораторных условиях в ФГБУ «НКЦГ им. С.Н. Голикова ФМБА России» в соответствии с требованиями международного стандарта по биотестированию воды [4]. В опытах использовалась синхронизированная культура дафний в возрасте 7 сут.

Биотестирование проводили в климатостате Р-2 (ООО «СФУ-Система», Россия) при температуре  $20 \pm 1,0^\circ\text{C}$  в лабораторных стаканчиках объёмом 20 мл. Стаканчики заполняли исследуемыми растворами. В каждую пробу помещали по 4 дафнии в возрасте 7 сут. Дафний отлавливали по одной особи автоматической пипеткой объёмом  $0,1 \text{ см}^3$  из ёмкости с синхронизированной культурой. Внесённую вместе с дафниями воду в объёме  $0,4 \text{ см}^3$  учитывали при приготовлении разбавлений. Стаканчики с дафниями помещали в климатостат. В ходе эксперимента дафний не кормили.

Для определения эффективной концентрации по предотвращению АДГА навеску тестируемого вещества растворяли в культивационной воде и разбавляли культивационной водой до получения растворов с необходимой концентрацией. На первом этапе определяли порядок действующих концентраций, для этого приготавливали разведения в 10, 100, 1000 и т.д. раз, начиная с  $\frac{1}{2} \text{ ЛК}_{50}$  (среднелетальная концентрация) тестируемого вещества.  $\text{ЛК}_{50}$  исследуемых фармакологических веществ были определены в предыдущем исследовании [12].

Далее в отобранном диапазоне концентраций приготавливали 4–6 разбавлений ХБ с интервалом 0,1 по логарифмической шкале (по 3 параллельные пробы на каждую концентрацию). Виалы заполняли 9 мл исследуемых растворов и помещали в каждую по 4 дафнии. Через 1 ч в каждую ёмкость добавляли по 1 мл обратимого ингибитора (ОИ) в концентрации, способной вызывать развитие АДГА у 100% зоогидробионтов

с минимальным процентом летальности. Для ОИ-8 эта концентрация составляла 1,3 мг/л [12]. В качестве контроля использовали 3 параллельные пробы с р-ром ОИ без добавления ХБ.

Через 24 и 48 ч в каждой пробе определяли количество выживших дафний и визуально фиксировали у них наличие или отсутствие АДГА. Минимальную эффективную концентрацию по предотвращению АДГА ( $ЭК_{99}$ ) тестируемых холиноблокаторов рассчитывали методом пробит-анализа. Затем определяли величину отношения  $ЛК_{50}$  к  $ЭК_{99}$ , которая характеризует «терапевтический» интервал действия препаратов и позволяет проводить сравнение их активности. Каждый эксперимент повторяли трижды.

Для определения ИЗ приготавливали р-р холиноблокатора в концентрации 1/10  $ЛК_{50}$ . Виалы заполняли 1 мл исследуемого р-ра и помещали в них по 4 дафнии. Через 1 ч в каждую ёмкость добавляли по 9 мл р-ра ОИ в 5–10 концентрациях, возрастающих по логарифмической шкале, по 3 параллельные пробы на каждую концентрацию. В качестве контроля использовали р-ры ОИ без добавления ХБ, по 3 параллельные пробы на каждую концентрацию.

Через 24 и 48 ч в каждой пробе отмечали число погибших и выживших дафний и определяли  $ЛК_{50}$  методом пробит-анализа с использованием таблиц, предложенных В.Б. Прозоровским [17]. Отношение величин  $ЛК_{50}$  обратимого ингибитора в присутствии и отсутствии тестируемого холиноблокатора определяет его индекс защиты (ИЗ). Каждый эксперимент повторяли трижды.

## Результаты и их обсуждение

В табл. 1 представлены результаты эксперимента по определению значения минимальной эффективной концентрации по предотвращению АДГА холиноблокаторов ( $ЭК_{99}$ ) при отравлении модельным холинотиметиком, который был отобран

по результатам предыдущего исследования — ОИ-8 [12].

В соответствии с литературными данными и нашими экспериментальными наблюдениями при нахождении в водной среде в присутствии обратимого ингибитора ацетилхолинэстеразы у дафний развивается состояние атипичной двигательной гиперактивности, выражающееся в виде хаотичных перемещений и резких подергиваний и эквивалентное выраженному судорожному состоянию у теплокровных животных. Профилактическое внесение в среду препаратов с предположительным «противосудорожным» действием способно предотвратить развитие АДГА у дафний. Сравнение активности тестируемых препаратов проводили с неселективным М-холиноблокатором атропином, который является общепринятым антидотом при отравлении карбаматами [8].

Ранее было показано, что неселективный М-ХБ — глипин обладает самой высокой константой сродства к М-холинорецепторам ( $6,9 \times 10^{-10}$ – $8,7 \times 10^{-10}$  М), которая почти на порядок выше, чем у атропина [6, 13–15]. В эксперименте по предотвращению наступления АДГА он проявил самую высокую активность среди всех обследованных препаратов. При этом только у глипина длительность эффекта продолжалась также на вторые сутки.

Карамифен, обладающий М-холиноблокирующим и NMDA-блокирующим действием, также превосходил атропин по «противосудорожной» активности, что подтверждается в экспериментах на теплокровных животных при моделировании тяжелого отравления фенилкарбаматом [9].

Препарат бенактизин — центральный М-ХБ — входил в состав первого советского антидота фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) — сафолен [10]. В исследовании на дафниях он предотвращал наступление АДГА практически в два раза эффективнее, чем препарат сравнения атропин.

**Таблица 1.** Результаты определения ЭК<sub>99</sub> холиноблокаторов при отравлении ОИ-8, экспозиция 24 ч  
**Table 1.** Determination of EC<sub>99</sub> of anticholinergic drugs with OI-8 poisoning, exposure 24 h

Препарат	ЛК <sub>50</sub> , мг/л (M±m)	ЭК <sub>99</sub> , мг/л (M±m)	ЛК <sub>50</sub> / ЭК <sub>99</sub>
Глипин гидрохлорид	36,3±13,0	0,021±0,0047	1728,6
8-Methyl-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl cyclopentyl (hydroxy) phenylacetate	97,7±18,1	0,42±0,093	232,6
Карамифен	181,3±47,3	0,84±0,19	215,8
Бенактизин (Амизил)	776,0±144,0	8,38±1,86	92,6
(4-Benzhydryloxy-but-2-ynyl)-diethyl-amine	18,1±4,7	0,21±0,05	86,2
Атропин	144,0±51,0	2,65±0,59	54,3
Амедин	105,5±23,4	2,10±0,47	50,2
Циклозил гидрохлорид	159,5±46,7	3,33±0,74	47,9
Хлорозил	464,0±172,0	10,55±2,34	44,0
Пентифин гидрохлорид	9,1±0,2	0,21±0,05	43,3
Диферидин гидрохлорид	362,0±94,0	12,1±2,10	29,9
Апрофен гидрохлорид	79,9±24,4	4,2±0,93	19,0
1-Cyclopentyl-1-phenyl-4-(1-pyrrolidinyl)-2-butyn-1-ol	36,2±9,4	4,2±0,93	8,6
Трибутам гидрохлорид	721,0±188,0	96,52±21,90	7,5
Педифен гидрохлорид	8,0±0,3	1,67±0,37	4,8

**Примечание:** ЛК<sub>50</sub> — среднелетальная концентрация; ЭК<sub>99</sub> — минимальная эффективная концентрация по предотвращению АДГА; ЛК<sub>50</sub>/ЭК<sub>99</sub> — «терапевтический» интервал действия препаратов. Концентрации определяли методом пробит-анализа.

**Note:** ЛК<sub>50</sub> — median lethal concentration; ЭК<sub>99</sub> — minimum effective concentration by AMHA prevention; ЛК<sub>50</sub>/ЭК<sub>99</sub> — “therapeutic” drug action interval. Concentrations were determined by the method of probit analysis.

**Таблица 2.** Результаты определения индекса защиты холиноблокаторов при отравлении ОИ-8 (ЛК<sub>50</sub> = 7,1±2,3 мг/л), экспозиция 24 ч  
**Table 2.** Determination of the protective index of anticholinergic drugs with OI-8 poisoning (LC<sub>50</sub> = 7.1±2.3 mg/l), exposure 24h

Препарат	ЛК <sub>50</sub> опыт, мг/л (M±m)	ИЗ /ЛК <sub>50</sub> контроль
Глипин гидрохлорид	56,8±18,2	8,0
(4-Benzhydryloxy-but-2-ynyl)-diethyl-amine	42,6±12,8	6,0
Атропин	34,8±9,7	4,9
Пентифин гидрохлорид	27,0±8,4	3,8
Амедин	14,0±4,5	2,0
Апрофен гидрохлорид	14,5±4,2	2,0
1-Cyclopentyl-1-phenyl-4-(1-pyrrolidinyl)-2-butyn-1-ol	14,0±4,4	2,0
Карамифен	14,2±4,1	2,0
Педифен гидрохлорид	13,9±4,2	2,0
Трибутам гидрохлорид	14,0±4,0	2,0
Хлорозил	14,5±4,6	2,0
Диферидин гидрохлорид	7,4±2,2	1,0
Циклозил гидрохлорид	7,9±2,1	1,0
Бенактизин (Амизил)	6,3±2,0	<1,0
8-Methyl-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl cyclopentyl (hydroxy) phenylacetate	4,7±1,5	<1,0

**Примечание:** ЛК<sub>50</sub> опыт — среднелетальная концентрация ОИ в присутствии тестируемого ХБ; ИЗ — индекс защиты. Концентрации определяли методом пробит-анализа.

**Note:** ЛК<sub>50</sub> опыт — median lethal concentration of OI in the presence of the tested AD; ИЗ — protective index. Concentrations were determined by the method of probit analysis.

Центральные М-ХБ амедин, циклозил, пентифин и периферический М-ХБ хлорозил по «противосудорожной» активности на дафниях сопоставимы с атропином. Эти препараты также входили в состав разработанных ранее антидотов ФОВ [1, 11].

В табл. 2 представлены результаты определения индекса защиты холиноблокаторов при отравлении ОИ-8.

Представленные результаты свидетельствуют, что два препарата из четырнадцати — глипин и (4-Benzhydryloxy-but-2-ynyl)-diethyl-amine — имеют ИЗ выше, чем у атропина. Защитный эффект пентифина сопоставим с действием атропина. Препараты амедин, апрофен гидрохлорид, 1-Cyclopentyl-1-phenyl-4-(1-pyrrolidiny)-2-butyn-1-ol, карамифен, педифен гидрохлорид, трибутам гидрохлорид и хлорозил в эквитоксических концентрациях оказывают одинаковое защитное действие, которое в 2–2,5 раза меньше, чем у атропина. Холиноблокаторы бенактизин и 8-Methyl-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl cyclopentyl (hydroxy) phenylacetate защитного действия при отравлении обратимым ингибитором не оказывают.

## Выводы

Защитное действие М-ХБ при отравлении антихолинэстеразными веществами зависит от их способности блокировать постсинаптические М-холинорецепторы. Ранее было показано, что неселективный М-ХБ глипин обладает самой высокой константой сродства к М-холинорецепторам, которая почти на порядок выше, чем у атропина, а сродство к М-холинорецепторам пентифина сопоставимо с атропином.

Из представленных в табл. 1 и 2 данных следует, что глипин имеет максимальный индекс защиты при отравлении обратимым ингибитором ОИ-8 и проявляет макси-

мальную активность по предотвращению АДГА. При этом эффективность пентифина в проводимых тестах сопоставима с атропином. Эффект препаратов в тесте по предотвращению наступления АДГА определяется взаимодействием нескольких медиаторных систем, что объясняет отсутствие корреляционной зависимости между защитным и «противосудорожным» действием. Препараты мультитаргетного типа действия, такие как М-холино- и NMDA-блокатор карамифен, могут быть достаточно эффективны в тесте предупреждения АДГА у дафний и слабо эффективны при защите зооигробионтов от гибели. Очевидно, для предотвращения необоснованного исключения перспективных препаратов при проведении первичного фармакологического скрининга холиноблокаторов следует проводить оба теста: по предупреждению АДГА и предотвращению гибели дафний.

На основании представленных результатов в перечень перспективных кандидатов для исследования на теплокровных, специфическая активность которых сопоставима или превосходит эффект атропина, попали все отобранные ранее в экспериментах на животных ХБ. Интерес для дальнейшего исследования специфической активности на млекопитающих представляет ацетиленовое производное, препарат (4-Benzhydryloxy-but-2-ynyl)-diethyl-amine, защитное и «противосудорожное» действие которого превосходит эффекты атропина. Этот ХБ, в отличие от остальных обследованных препаратов, оказывает защитное действие и на вторые сутки наблюдения.

Проведённое исследование подтверждает правомерность и перспективность первичного фармакологического отбора препаратов холинергического типа действия на зооигробионтах *Daphnia magna Straus*.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Александрова М.Л., Баринов В.А., Бонитенко Е.Ю., Глушков Р.К., Долго-Сабуров В.Б., Журкович И.К., Зайцева М.А., Зацепин Э.В., Иваненко Н.Б., Иванов М.Б., Игнатъев Ю.А., Кашуро В.А., Лапина Н.В., Мелихова М.В., Муковский Л.А., Нечипоренко С.П., Носов А.В., Петров А.Н., Рутковский Г.В., Саватеева-Любимова Т.Н., Семёнов Е.В., Сибиряков В.К., Сомин И.Н., Стройкова Г.С., Томилин Н.В., Шабанова И.А., Шестова Г.В. *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт токсикологии. 80 лет. под ред. С.П. Нечипоренко, Е.Ю. Бонитенко, А.Н. Петрова.* СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2015:176. [Aleksandrova M.L., Barinov V.A., Bonitenko E.Ju., Glushkov R.K., Dolgo-Saburov V.B., Zhurkovich I.K., Zajceva M.A., Zacepin Je.V., Ivanenko N.B., Ivanov M.B., Ignat'ev Ju.A., Kashuro V.A., Lapina N.V., Melihova M.V., Mukovskij L.A., Nechiporenko S.P., Nosov A.V., Petrov A.N., Rutkovskij G.V., Savateeva-Ljubimova T.N., Semjonov E.V., Sibirjakov V.K., Somin I.N., Strojкова G.S., Tomilin N.V., Shabanova I.A., Shestova G.V. *Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe uchrezhdenie nauki Institut toksikologii. 80 let [Federal state budgetary institution of science Institute of toxicology. 80 years old]*. Ed. by S.P. Nechiporenko, E.Ju. Bonitenko, A.N. Petrov. Saint-Petersburg: JeLBI-SPb Publ., 2015:176. (In Russian)].
2. Большаков О.П., Незнанов Н.Г., Бабаханян Р.В. Дидактические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных. *Качественная клиническая практика.* 2002;1:58-61. [Bol'shakov O.P., Neznanov N.G., Babahanjan R.V. Didakticheskie i jeticheskie aspekty provedenija issledovanij na biomodeljah i na laboratornyh zhivotnyh [Didactic and ethical aspects of conducting research on biomodels and laboratory animals] *Kachestvennaja klinicheskaja praktika [Good Clinical Practice]*. 2002;1. (In Russian)].
3. Бондаренко А.А., Подосиновичева Н.П., Зайцева М.А., Мелехова А.С., Мельникова М.В., Бельская А.В., Лисицкий Д.С., Верведа А.Б., Вихарев Ю.Б. Первичный скрининг противосудорожных препаратов с использованием зоогидробионтов *Daphnia magna* Straus. *Мат-лы научно-практической конференции «Актуальные вопросы токсикологии и фармакологии».* СПб., 2019:114–117. [Bondarenko A.A., Podosinovicova N.P., Zajceva M.A., Melehova A.S., Mel'nikova M.V., Bel'skaja A.V., Lisickij D.S., Verveda A.B., Viharev Ju.B. Pervichnyj skрининг protivosudorozhnyh preparatov s ispol'zovaniem zoogidrobiontov *Daphnia magna* Straus [Primary screening of anticonvulsants using *Daphnia magna* Straus zoohydrobionts] *Mat-ly nauchno-prakticheskoy konferencii "Aktual'nye voprosy toksikologii i farmakologii"* ["Current Issues of Toxicology and Pharmacology"]. Saint-Petersburg, 2019:114–117. (In Russian)].
4. ГОСТ 32536-2013 «Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Определение острой токсичности для дафний». М., 2014. [GOST 32536-2013 "Metody ispytanj himicheskoj produkcii, predstavljajushhej opasnost' dlja okruzhajushhej sredy. Opredelenie ostroj toksichnosti dlja dafnij" ["Testing of chemicals of environmental hazard. *Daphnia* sp. Acute Immobilisation test"]. Moscow, 2014. (In Russian)].
5. ГОСТ 32367-2013 «Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Угнетение репродуктивной способности Дафнии magna». М., 2014. [GOST 32367-2013 "Metody ispytanj himicheskoj produkcii, predstavljajushhej opasnost' dlja okruzhajushhej sredy. Ugnetenie reproduktivnoj sposobnosti Dafnii magna" ["Testing of chemicals of environmental hazard. *Daphnia magna* reproduction test"]. Moscow, 2014. (In Russian)].
6. Долго-Сабуров В.Б., Подосиновичева Н.П., Санковский А.А. Некоторые механизмы регуляции синтеза и секреции ацетилхолина в холинергических терминалах мозга. *Нейрохимия.* 1992;11(1):3–9. [Dolgo-Saburov V.B., Podosinovicova N.P., Sankovskij A.A. Nekotorye mehanizmy reguljacii sinteza i sekrecii acetilholina v holinergicheskikh terminaljah mozga [Some mechanisms of regulation of the synthesis and secretion of acetylcholine in the cholinergic terminals of the brain]. *Nejrohimiya [Neurochemistry]*. 1992;11(1):3–9. (In Russian)].
7. Кулагина К.В. Использование биопараметров *Daphnia magna* Straus для оценки действия пестицидов. Дисс. ... канд. биол. наук. Ульяновск, 2011:164. [Kulagina K.V. *Ispol'zovanie bioparametrov Daphnia magna Straus dlja ocenki dejstviya pesticidov* [Using bioparameters of *Daphnia magna* Straus to evaluate pesticide effects]. Diss. ... kand. biol. nauk [PhD thesis of Cand. Sci. (Biol.)]. Ul'janovsk, 2011:164. (In Russian)].
8. Лудевиг Р., Лос К. *Острые отравления.* М.: Медицина, 1983:560. [Ludevig R., Los K. *Ostrye otravlenija [Acute poisonings]*. Moscow: Medicina Publ., 1983:560. (In Russian)].
9. Мелехова А.С., Петров А.Н., Беспалов А.Я., Бельская А.В., Мельникова М.В., Зацепин Э.П., Шестова Г.В., Ганеев А.А. Экспериментальная фармакотерапия судорожного синдрома при моделировании тяжёлого отравления карбаматом. *Medline.ru. Российский биомедицинский журнал.* 2019;20(2):294–306. [Melehova A.S., Petrov A.N., Bespalov A.Ja., Bel'skaja A.V., Mel'nikova M.V., Zacepin Je.P., Shestova G.V., Ganeev A.A. Jeksperimental'naja farmakoterapija sudorozhnogo sindroma pri modelirovanii tjazhelogo otravlenija karbamatom [Experimental pharmacotherapy of convulsive syndrome in the simulation of severe carbamate poisoning]. *Medline.ru. Russian biomedical journal.* 2019;20(2):294–306. (In Russian)].



10. Нечипоренко С.П., Баринов В.А., Петров А.Н. Роль антидотов в лечении острых отравлений (прошлое и настоящее). *Токсикологический вестник*. 2011;111(6):38–42. [Nechiporenko S.P., Barinov V.A., Petrov A.N. Rol' antidotov v lechenii ostrykh otravlenij (proshloe i nastojashee) [The role of antidotes in the treatment of acute poisoning (past and present)]. *Toksikologicheskij vestnik* [Toxicology Bulletin]. 2011;111(6):38–42. (In Russian)].
11. Нечипоренко С.П., Бонитенко Ю.Ю., Петров А.Н., Бонитенко Е.Ю. Фармакологическая профилактика и терапия поражений ФОС. *Бюллетень восточно-сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2009;65(1):176–181. [Nechiporenko S.P., Bonitenko Ju.Ju., Petrov A.N., Bonitenko E.Ju. Farmakologicheskaja profilaktika i terapija porazhenij FOS [Phosphororganic compounds injury: pharmacological therapy and profilaxis]. *Bjulleten' vostochno-sibirskogo otdelenija Rossijskoj akademii medicinskih nauk* [Bulletin of the East Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences]. 2009;65(1):176–181. (In Russian)].
12. Подосиновичева Н.П., Александрова М.Л., Бондаренко А.А., Горчакова Т.Л., Беспалов А.Я., Ватаева А.А., Мастерова К.В., Журкович И.К. Скрининг холинэргических фармакологических веществ на биологических тест-объектах — зоогидробонтах *Daphnia magna Straus*. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2022;85(5):3–9. [Podosinovicova N.P., Aleksandrova M.L., Bondarenko A.A., Gorchakova T.L., Bepalov A.Ja., Vataeva A.A., Masterova K.V., Zhurkovich I.K. Skringing holinergicheskikh farmakologicheskikh veshchestv na biologicheskikh test-ob'ektah — zoogidrobionтах *Daphnia magna Straus*. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2022;85(5):3–9. (In Russian)].
13. Подосиновичева Н.П., Горобец Л.Ф., Долго-Сабуров В.Б. Типовая принадлежность пресинаптических М-холинорецепторов различных отделов мозга крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1996;122(7):75. [Podosinovicova N.P., Gorobec L.F., Dolgo-Saburov V.B. Tipovaja pri-nadlezhnost' presinapticheskikh M-holinoreceptorov razlichnyh otdelov mozga krysv [Typical affiliation of presynaptic M-cholinergic receptors in different parts of the rat brain]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1996;122(7):75. (In Russian)].
14. Подосиновичева Н.П., Космачев А.Б., Долго-Сабуров В.Б., Соловьева Н.Е. Использование радиолигандного анализа для оценки гетерогенности пре- и постсинаптических М-холинорецепторов некоторых отделов мозга крысы. *Нейрохимия*. 1999;16(4):269–272. [Podosinovicova N.P., Kosmachev A.B., Dolgo-Saburov V.B., Solov'eva N.E. Ispol'zovanie radioligandnogo analiza dlja ocenki geterogenosti pre- i postsinapticheskikh M-holinoreceptorov nekotoryh otdelov mozga krysvy [The use of radioligand analysis to assess the heterogeneity of pre- and postsynaptic M-cholinergic receptors in some parts of the rat brain]. *Nejrohimiya* [Neurochemistry]. 1999;16(4):269–272. (In Russian)].
15. Подосиновичева Н.П., Космачев А.Б., Долго-Сабуров В.Б., Соловьева Н.Е. Оценка типовой принадлежности и нейрональной локализации мускариновых рецепторов больших полушарий головного мозга крыс. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2000;5:7–9. [Podosi-novicova N.P., Kosmachev A.B., Dolgo-Saburov V.B., Solov'eva N.E. Ocenka tipovoj pri-nadlezhnosti i nejronal'noj lokalizacii muskarinovyh receptorov bol'shix polusharij golovnogo mozga krysv [Evaluation of type affiliation and neuronal localization of muscarinic receptors in the cerebral hemispheres of rats]. *Experimental and clinical pharmacology*. 2000;5:7–9. (In Russian)].
16. Подосиновичева Н.П., Космачев А.Б., Тонко-пий В.Д., Загребин А.О., Евдокимова Е.А., Малов А.М., Петров В.В., Долго-Сабуров В.Б. *Daphnia magna Straus* как объект при исследовании препаратов холинэргического типа действия. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2002;65(1):73–74. [Podosinovicova N.P., Kosmachev A.B., Tonkopij V.D., Zagrebin A.O., Evdokimova E.A., Malov A.M., Petrov V.V., Dolgo-Saburov V.B. *Daphnia magna Straus* как ob'ekt pri issledovanii preparatov holinergicheskogo tipa dejstvija [Daphnia magna Straus as an object in the study of drugs with a cholinergic type of action]. *Experimental and clinical pharmacology*. 2002;65(1):73–74. (In Russian)].
17. Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований. *Психофармакол. биол. наркол*. 2007;7(3–4):2090–2120. [Prozorovskij V.B. Statisticheskaja obrabotka rezul'tatov farmakologicheskikh issledovanij [Statistic processing of data of pharmacological investigations]. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2007;7(3–4):2090–2120. (In Russian)].
18. Тонкопий В.Д., Загребин А.О. Обоснование разработки новых методов биоидентификации антихолинэстеразных соединений в водной среде. *Журнал экол. химии*. 1993;2:133–137. [Tonkopij V.D., Zagrebin A.O. Obosnovanie razrabotki novyh metodov bioidentifikacii antiholinesteraznyh soedinenij v vodnoj srede [Substantiation of the development of new methods for the bioidentification of anticholinesterase compounds in the aquatic environment]. *Zhurnal jekol. himii* [Journal of Environmental Chemistry]. 1993;2:133–137. (In Russian)].
19. Тонкопий В.Д., Космачев А.П., Загребин А.О. Сравнительный фармакологический анализ М-холинорецепторов у дафний и крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1994;102(5):497–499. [Tonkopij V.D., Kosmachev A.P., Zagrebin A.O. Sravnitel'nyj farmakologicheskij analiz M-holinoreceptorov u dafnij i krysv [Comparative pharmacological analysis of M-cholinergic receptors in Daphnia and rats].

- Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1994;102(5):497–499. (In Russian)].
20. Филько О.А., Космачев А.Б., Загребин А.О., Тонкопий В.Д. Возможность использования *Daphnia magna* в качестве альтернативного тест-объекта для оценки рецепторной избирательности холинотропных веществ. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 1999;62(6):23–25. [Fil'ko O.A., Kosmachev A.B., Zagrebin A.O., Tonkopij V.D. *Vozможnost' ispol'zovaniya Daphnia magna v kachestve al'ternativnogo test-ob'ekta dlja ocenki receptornoj izbiratel'nosti holinotropnyh veshhestv* [The possibility of using *Daphnia magna* as an alternative test object for evaluating the receptor selectivity of cholinotropic substances]. *Experimental and clinical pharmacology*. 1999;62(6):23–25. (In Russian)].
21. ATLA Alternatives to laboratory Animals. Third World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences. Bologna, Italy, 1999. Urecht, Programme and Abstracts: 442.
22. Dionisio R., Daniel D., de Alkmin G.D., Nunes B. Multi-parametric analysis of ciprofloxacin toxicity at Ecologically relevant levels: Short- and long-term effects on *Daphnia magna*. *Environmental toxicology and pharmacology*. 2020;74:1–8.
23. Jeong T.Y., Yoon D., Kim S., Kim H.Y., Kim S.D. Mode of action characterization for adverse effect of propranolol in *Daphnia magna* based on behavior and physiology monitoring and metabolite profiling. *Environmental Pollution*. 2018;233:99–108.
24. Ren Z., Zhang X., Wang X., Qi P., Zhang B., Zeng Y., Fu R., Miao M. AChE inhibition: One dominant factor for swimming behavior changes of *Daphnia magna* under DDVP exposure. *Chemosphere*. 2015:252–257.
25. Tkaczyk A., Bownik A., Dudka J., Kowal K., Ślaska B. *Daphnia magna* model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: A review. *Science of the Total Environment*. 2021;763:1–18.

---

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Бондаренко Анастасия Александровна\***, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России», ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»;  
**e-mail: [bondarenko-nastua@yandex.ru](mailto:bondarenko-nastua@yandex.ru)**

**Anastasiya A. Bondarenko\***, Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Institute of Experimental Medicine;  
**e-mail: [bondarenko-nastua@yandex.ru](mailto:bondarenko-nastua@yandex.ru)**

**Горчакова Татьяна Леонидовна**, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;  
**e-mail: [albsp2011@yandex.ru](mailto:albsp2011@yandex.ru)**

**Tat'jana L. Gorchakova**, Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail: [albsp2011@yandex.ru](mailto:albsp2011@yandex.ru)**

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

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

**Прокопенко Любовь Ивановна**, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;  
**e-mail: [albsp2011@yandex.ru](mailto:albsp2011@yandex.ru)**

**Ljubov' I. Prokopenko**, Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail: [albsp2011@yandex.ru](mailto:albsp2011@yandex.ru)**

**Шабанов Петр Дмитриевич**, д.м.н., проф., ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»;  
**e-mail: [pdshabanov@mail.ru](mailto:pdshabanov@mail.ru)**

**Petr D. Shabanov**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Institute of Experimental Medicine;  
**e-mail: [pdshabanov@mail.ru](mailto:pdshabanov@mail.ru)**

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## ВЛИЯНИЕ КАРНОЗИНА НА ОКСИДАТИВНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ПОЧЕК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

А.Ю. Жариков\*, С.О. Филинова, О.Н. Мазко, И.П. Бобров,  
О.Г. Макарова, А.С. Кальницкий

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России  
656038, Российская Федерация, Барнаул, просп. Ленина, 40

В статье представлены результаты изучения влияния карнозина на оксидативное повреждение почек при экспериментальном сахарном диабете. Эксперимент проведен на двух группах крыс Wistar: контрольная (n=8) и подопытная (n=11). В обеих группах моделировался стрептозотоциновый сахарный диабет в течение 8 недель. Подопытным животным с 4-й по 8-ю неделю внутрижелудочно вводился карнозин (15 мг/кг). Определялась концентрация глюкозы, белка и экскреция креатинина в моче. По окончании 8 недель у крыс изымались почки для определения показателей выраженности оксидативного стресса (концентрации тиобарбитуратреактивных продуктов, общей антиоксидантной активности, активности каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы), а также для проведения морфометрии размера почечных клубочков, площади сосудистого русла, капилляров и мезангия в клубочках, количества подоцитов. Установлено, что после применения карнозина, по сравнению с контролем, концентрация тиобарбитуратреактивных продуктов была в 1,5 раза ниже ( $p < 0,001$ ), общая антиоксидантная активность и активность каталазы была выше в 2,2 ( $p < 0,001$ ) и 1,2 раза ( $p = 0,039$ ) соответственно. Площадь почечных клубочков и мезангия в них снизилась в 1,6 раза ( $p < 0,001$  и  $p = 0,04$ ). Суммарная площадь кровотока увеличилась в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ), площадь 1 капилляра и количество подоцитов в клубочке — в 1,9 раза ( $p < 0,001$  и  $p = 0,001$ ). Также наблюдалось снижение концентрации белка в моче в 3,5 раза ( $p = 0,007$ ). Таким образом, ингибирование образования конечных продуктов гликирования карнозином при экспериментальном сахарном диабете ослабляет оксидативное повреждение почек, что сопровождается уменьшением протеинурии, увеличением количества подоцитов, снижением площади почечных клубочков и улучшением состояния сосудистой системы почечных клубочков.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, оксидативное повреждение почек, конечные продукты гликирования, карнозин

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

**Финансирование:** работа выполнена за счет средств ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России.

**Для цитирования:** Жариков А.Ю., Филинова С.О., Мазко О.Н., Бобров И.П., Макарова О.Г., Кальницкий А.С. Влияние карнозина на оксидативное повреждение почек при экспериментальном сахарном диабете. *Биомедицина*. 2024;20(1):52–61. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-52-61>

Поступила 09.10.2023

Принята после доработки 05.12.2023

Опубликована 10.03.2024

## EFFECT OF CARNOSINE ON OXIDATIVE DAMAGE TO THE KIDNEYS IN EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

Alexander Yu. Zharikov\*, Svetlana O. Filinova, Olesya N. Mazko, Igor P. Bobrov,  
Olesya G. Makarova, Artem S. Kalnitsky

*Altai State Medical University of the Ministry of Health Care of the Russia  
656038, Russian Federation, Barnaul, Lenin Avenue, 40*

The article presents the results of a study into the effect of carnosine on oxidative damage to the kidneys in experimental diabetes mellitus. The experiment was carried out using two groups of Wistar rats: control (n=8) and experimental (n=11). In both groups, streptozotocin-induced diabetes mellitus was simulated for eight weeks. Experimental animals were intragastrically injected with carnosine (15 mg/kg) from weeks 4 to 8. The concentration of glucose, protein and creatinine excretion in urine were determined. At the end of eight weeks, the kidneys were removed from the rats to determine the indicators of oxidative stress severity (concentration of thiobarbiturate-reactive products, total antioxidant activity, activity of catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase) and to conduct morphometry of the size of the renal glomeruli, the area of the vascular bed, capillaries and mesangium in the glomeruli, the number of podocytes. A comparison with the control showed the use of carnosine led to a 1.5-fold decrease in the concentration of thiobarbiturate-reactive products ( $p<0.001$ ), a 2.2-fold increase in the total antioxidant activity ( $p<0.001$ ), and a 1.2-fold increase in catalase activity ( $p=0.039$ ). The area of the renal glomeruli and the mesangium in this group decreased by 1.6 times ( $p<0.001$  and  $p=0.04$ , respectively). The total area of blood flow increased by 2.4 times ( $p<0.001$ ), the area of one capillary, and the number of podocytes in the glomerulus increased by 1.9 times ( $p<0.001$  and  $p=0.001$ ). A 3.5-fold decrease in protein concentration in urine was also noted ( $p=0.007$ ). Therefore, inhibition of the formation of advanced glycation end products by carnosine in experimental diabetes mellitus attenuates oxidative damage to the kidneys. This is evidenced by a decrease in proteinuria, an increase in the number of podocytes, a decrease in the area of the renal glomeruli, and an improvement in the condition of the glomerular vascular system.

**Keywords:** diabetes mellitus, oxidative kidney damage, glycation end products, carnosine

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

**Funding:** the work was carried out at the expense of the funds of the Federal State Budgetary Educational Institution of the Ministry of Health Care of Russia.

**For citation:** Zharikov A. Yu., Filinova S. O., Mazko O. N., Bobrov I. P., Makarova O. G., Kalnitsky A. S. Effect of Carnosine on Oxidative Damage to the Kidneys in Experimental Diabetes Mellitus. *Journal Biomed.* 2024;20(1):52–61. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-52-61>

Submitted 09.10.2023

Revised 05.12.2023

Published 10.03.2024

## Введение

Как известно, оксидативный стресс играет важную роль в развитии нефропатии при сахарном диабете [16, 17]. При этом считается, что в основе развития оксидативного повреждения почечных клубочков могут лежать 4 возможных механизма: прямое угнетение клеточных систем антиоксидантной защиты глюкозой и ее метаболитами, накопление конечных продуктов гликирования, активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, активация протеинкиназы С [8, 18]. Однако вопрос о том, какой из этих механизмов наиболее

значим для развития патологии, остается нерешенным. Решение этого вопроса могло бы способствовать более эффективному поиску новых методов антиоксидантной коррекции повреждения почек при сахарном диабете.

Ранее мы установили, что при применении прямого антиоксиданта  $\alpha$ -токоферола ацетата оксидативный стресс в почках ослабляется, однако это не сопровождается ослаблением протеинурии и повреждения почечных клубочков [19]. В другом исследовании нами было показано, что на фоне применения блокатора минералокортико-

идных рецепторов эплеренона возникает нефропротекторное действие, но при этом активность процесса свободнорадикального окисления (СРО) в почках не снижается, а, напротив, увеличивается [1].

В настоящем исследовании мы решили изучить эффективность фармакологической нефропротекции при экспериментальном сахарном диабете (СД) посредством ингибирования образования конечных продуктов гликирования. Для этого в качестве фармакологического «инструмента» был использован дипептид карнозин. По современным представлениям, карнозин может ингибировать образование конечных продуктов гликирования посредством 4-х механизмов [9, 14]. Во-первых, под его влиянием происходит восстановление нативного белка из основания Шиффа за счет эффекта трансгликирования. Данный механизм основан на нуклеофильной атаке карнозина на предварительно образованный альдозамин, такой как глюкозиллин, с образованием глюкозилкарнозина. Карнозин также может ингибировать образование конечных продуктов гликирования посредством хелатирования ионов металлов, катализирующих реакции окисления. Кроме того, карнозин может оказывать гипогликемическое действие и способен детоксифицировать активные карбонильные соединения — предшественники конечных продуктов гликирования.

**Цель исследования** — изучить влияние карнозина на оксидативное повреждение почек при экспериментальном сахарном диабете для оценки эффективности фармакологической нефропротекции посредством ингибирования образования конечных продуктов гликирования.

### Материалы и методы

Исследование было проведено на 19 самцах крыс Wistar в возрасте 3–4 мес. массой 300–430 г, выращенных в виварии отделе-

ния генетики животных и человека ФИЦ «Институт цитологии и генетики» СО РАН (г. Новосибирск). Экспериментальные животные содержались в индивидуальных клетках метаболического типа, приспособленных для сбора мочи. Питание крыс осуществлялось в соответствии со стандартной лабораторной диетой, количество воды для питья *ad libitum*. Эксперимент проводился на основании протокола Локального этического комитета ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Лабораторные животные были разделены на две группы: контрольная группа (8 крыс) и подопытная группа (11 крыс), в которых осуществлялось 8-недельное моделирование стрептозотоцинового СД. Для моделирования СД крысам внутрибрюшинно однократно вводился 1 мл р-ра стрептозотоцина в цитратном буфере в дозе 65 мг/кг. Для более селективного моделирования СД II типа крысам обеих групп предварительно вводился внутрибрюшинно р-р цитофлавина из расчета дозировки никотиамида 115 мг/кг [2]. При этом животным подопытной группы ежедневно с 4-й по 8-ю неделю внутрижелудочно через зонд вводился карнозин в дозе 15 мг/кг. Химически чистый карнозин (чистота не менее 98%) был предоставлен ЗАО «Эвалар» (Россия). Данная доза карнозина была выбрана путем сопоставления с результатами наших предыдущих экспериментов, в которых была выявлена высокая фармакологическая активность карнозина в коррекции уратной нефропатии (патент РФ № 2762139 от 16.12.2021).

Перед началом эксперимента, а затем в конце 4-й и 8-й недели исследования осуществлялся сбор суточной мочи лабораторных животных для определения концентрации глюкозы и белка, а также суточной экскреции креатинина. В качестве лабораторного оборудования был использован анализатор биохимический CS-T240



(“DIRUI Industrial Co., Ltd”, Китай), а также наборы реагентов «Диакон-ДС» (Россия).

По окончании 8 недель эксперимента производилась эвтаназия лабораторных животных с применением эфира диэтилового с последующим изъятием обеих почек, одна из которых направлялась на определения показателей активности процесса СРО, а другая — для проведения морфологических исследований.

Уровень окислительного стресса в ткани почек оценивали по показателям активности прооксидантной системы (концентрации тиобарбитурреактивных продуктов (ТБРП)) и общей прооксидантной активности (ОПА) и антиоксидантной системы (активности каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГПО). Определение проводилось в соответствии с апробированными ранее методиками [4]. Морфологические исследования также проводили по апробированной ранее методике [3]. Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась с использованием программы Statistica 12.0, адаптированной для операционной системы Windows. Результаты биохимических исследований представлены медианой и интраквартильным размахом (Me (25%;75%)). Результаты морфометрических исследований представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего ( $M \pm m$ ). Статистическая значимость различий между независимыми выборками определялась с использованием непара-

метрического критерия Манна — Уитни, а зависимых выборок — с применением непараметрического критерия Вилкоксона. Статистическая значимость отличий признавалась при значении  $p < 0,05$ .

## Результаты исследований

В результате проведенных экспериментов установлено, что концентрация ТБРП в гомогенате почек крыс подопытной группы была в 1,5 раза ниже, чем в контрольной группе (табл. 1). При этом ОАА увеличилась по сравнению с контрольной группой в 2,2 раза. Активность каталазы увеличилась по сравнению с контрольной группой в 1,2 раза. Активность СОД и ГПО между группами не различалась (в таблице не представлено).

По результатам исследования биохимических показателей функции почек оказалось, что к концу 4-й недели моделирования СД в обеих группах наблюдался статистически значимый рост концентрации глюкозы в моче. Однако затем на фоне 4-недельного введения карнозина концентрация глюкозы в моче крыс подопытной группы статистически значимо снизилась, будучи к концу эксперимента в 4,3 раза ниже исходного показателя и в 10,2 раза — показателя, зафиксированного в контрольной группе (табл. 2).

Кроме того, к концу эксперимента в моче крыс подопытной группы было выявлено статистически значимое снижение концентрации белка: относительно исходного уровня — в 3,8 раза, относительно контрольной

**Таблица 1.** Показатели активности процесса свободнорадикального окисления в гомогенате почек экспериментальных крыс (Me (25%;75%))

**Table 1.** Indicators of the activity of the free radical oxidation process in the kidney homogenate in experimental rats (Me (25%; 75%))

Группа	ТБРП, мг/г	ОАА, %	Каталаза, %
Контрольная (n=8)	6,2 (5,4;7,2)	30,1 (22,8;39,7)	10,3 (5,9;12,1)
Подопытная (n=11)	4,2 (2,2;4,7) $p < 0,001$	66,4 (64,6;69,2) $p < 0,001$	12,4 (11,1;13,6) $p = 0,039$

**Примечание:**  $p$  — показатель уровня статистической значимости межгрупповых различий.

**Note:**  $p$  — statistical significance of intergroup differences.



группы — 3,5 раза. Уровень экскреции креатинина не имел статистически значимых различий (в таблице не представлено).

Проведенное морфологическое исследование показало, что в контрольной группе в почечных клубочках было выявлено расширение межкапиллярного пространства за счет разрастания ШИК-позитивной соединительной ткани и увеличения площади мезангия. Просветы капилляров клубочков были сужены, базальные мембраны капилляров утолщены. Капсулы клубочков были утолщены. Подоциты увеличены в размерах, с набухшими ядрами. В интерстиции почки встречались очаги нефросклероза, в таких участках отмечались утолщенные базальные мембраны канальцев. Нефроциты канальцев были уплощены, просвет канальцев расширен. Канальцы были кистозно расширены. Большинство нефроцитов находилось в состоянии гиалиново-капельной дистрофии. На некоторых участках определялась лимфоплазмочитарная инфильтрация. Гистологическая картина выявленных изменений представлена на рис. 1.

На этом фоне, как это следует из рис. 1, в почечных клубочках крыс под-опытной группы, получавших карнозин, было выявлено слабовыраженное очаговое расширение межкапиллярного пространства и незначительное отложение ШИК-позитивного материала в мезангии. Просветы капилляров клубочков преимущественно были широкими, отмечалось полнокровие капилляров. Подоциты были небольшого размера, с округлыми ядрами небольшого размера. В интерстиции почки явления нефросклероза были минимальны. Морфологическое строение нефроцитов приближалось к норме, явления гиалиново-капельной дистрофии на большинстве участков отсутствовали.

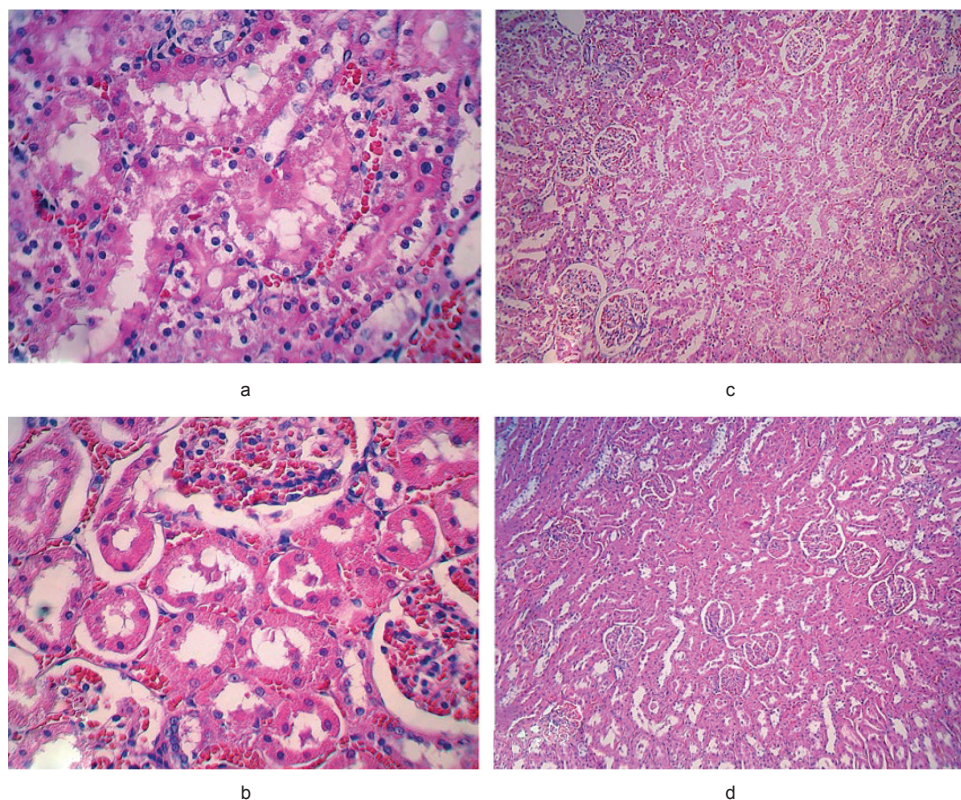
При проведении морфометрии, результаты которой представлены в табл. 3, было выявлено статистически значимое уменьшение площади почечных клубочков у крыс подопытной группы (рис. 1d) относительно контрольной группы (рис. 1c) в 1,6 раза. Площадь мезангия в клубочках на фоне применения карнозина также снижалась в 1,6 раза (рис. 2с, f). При этом в контроль-

**Таблица 2.** Показатели экскреторной функции почек экспериментальных крыс (Me (25%; 75%))  
**Table 2.** Indicators of the excretory kidney function in experimental rats (Me (25%; 75%))

Период	Концентрация глюкозы, ммоль/л		Концентрация белка, г/л	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
И/у	2,3 (2,1;2,4) (n=8)	1,7 (0,9;2,0)	13,3 (11,0;15,9) (n=8)	12,5 (10,6;14,9)
4-я неделя	5,7 (3,2;15,9) $p_{u/y}=0,017$ (n=8)	4,3 (3,0;6,1) $p_{u/y}=0,006$	12,1 (7,9;18,5) (n=8)	14,8 (8,5;17,3)
8-я неделя	4,1 (1,8;26,8) (n=8)	0,4 (0,2;1,5) $p_{u/y}=0,033$ $p_k=0,003$	11,7 (5,9;14,8) (n=8)	3,3 (2,3;5,9) $p_{u/y}=0,003$ $p_k=0,007$

**Примечание:**  $u/y$  — исходный уровень значения показателя до начала моделирования стрептозотоцинового сахарного диабета, данные представлены в виде медианы и интраквартильного размаха (Me (25%; 75%)),  $p_{u/y}$  — показатель уровня статистической значимости различий показателя относительно его исходного уровня,  $p_k$  — показатель уровня статистической значимости межгрупповых различий.

**Note:**  $u/y$  — initial level of the indicator value before the modeling of streptozotocin diabetes mellitus, the data are presented in the form of median and intraquartile range (Me (25%; 75%)),  $p_{u/y}$  — statistical significance of differences in the indicator relative to its initial level,  $p_k$  — statistical significance of intergroup differences.



**Рис. 1.** Ткань почек экспериментальных крыс. Окраска гематоксилином и эозином.

**Примечание:** а — ув.  $\times 400$ , гиалиново-капельная дистрофия нефроцитов в контрольной группе крыс; б — ув.  $\times 400$ , отсутствие дистрофических изменений в подопытной группе крыс; с — ув.  $\times 100$ , контрольная группа крыс, клубочки увеличены в размерах; д — ув.  $\times 100$ , подопытная группа крыс, размеры клубочков уменьшены.

**Fig. 1.** Kidney tissue of experimental rats. Staining with hematoxylin and eosin.

**Note:** a — magn.  $\times 400$ , hyaline-drop nephrocyte dystrophy in the control group of rats; b — magn.  $\times 400$ , absence of dystrophic changes in the experimental group of rats; c — magn.  $\times 100$ , control group of rats, glomeruli increased in size; d — magn.  $\times 100$ , experimental group of rats, glomerular sizes decreased.

**Таблица 3.** Морфометрические показатели почек экспериментальных крыс ( $M \pm m$ )

**Table 3.** Morphometric parameters of experimental rat kidneys ( $M \pm m$ )

Группа	Площадь почечных клубочков, мкм <sup>2</sup>	Средняя суммарная площадь сосудов в клубочке, мкм <sup>2</sup>	Средняя площадь просвета 1 капилляра в клубочке, мкм <sup>2</sup>	Площадь мезангия в клубочках, мкм <sup>2</sup>	Количество подоцитов в клубочке
Контрольная	10470,5 $\pm$ 735,6	1289,4 $\pm$ 109,8	24,0 $\pm$ 1,2	7158,2 $\pm$ 858,8	9,2 $\pm$ 1,0
Подопытная	6447,2 $\pm$ 309,6 p<0,001	3064,2 $\pm$ 29,8 p<0,001	45,8 $\pm$ 2,0 p<0,001	4452,3 $\pm$ 304,6 p=0,04	17,8 $\pm$ 1,4 p=0,001

**Примечание:** p — уровень статистической значимости межгрупповых различий морфометрических показателей.

**Note:** p — statistical significance of intergroup differences in morphometric indicators.

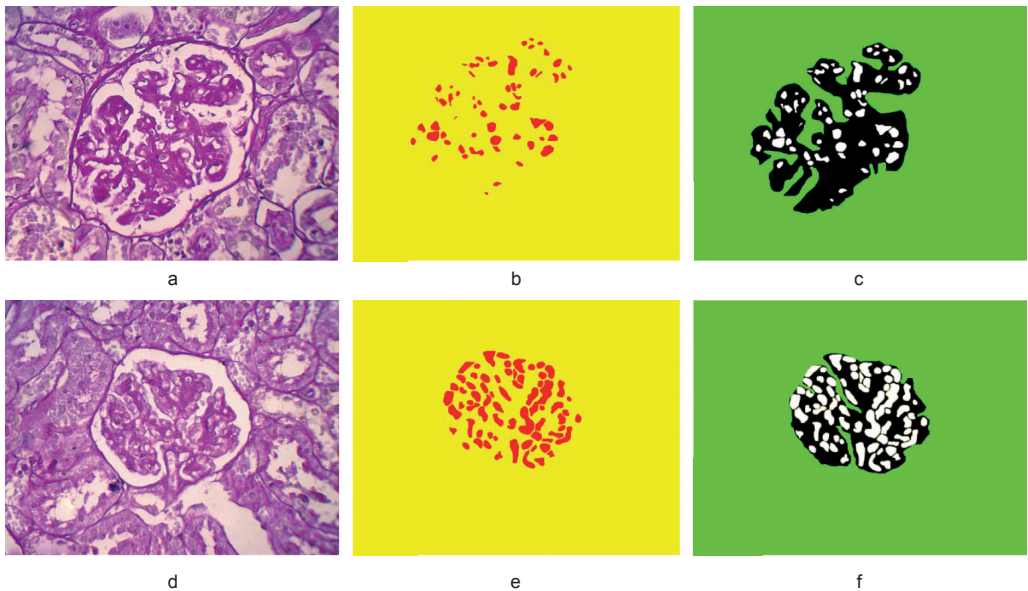
ной группе было зафиксировано разрастание ШИК-позитивной ткани в клубочках (рис. 2а), которое в подопытной группе было незначительным (рис. 1д). Кроме того, суммарная площадь сосудистого русла и площадь 1 капилляра в почечных клубочках крыс, получавших карнозин (рис. 2е), статистически значимо увеличились относительно контроля (рис. 2б) в 2,4 и 1,9 раза соответственно. Количество подоцитов в клубочках пролеченных животных было больше, чем в контроле, в 1,9 раза.

### Обсуждение результатов

Таким образом, по результатам проведенного исследования установлено, что длительное применение карнозина в условиях экспериментального стрептозотоцинового СД сопровождалось уменьшением актив-

ности процесса свободнорадикального окисления в почках, ослаблением повреждения почечных клубочков, нормализацией структуры и количества подоцитов и снижением концентрации белка в моче.

Сегодня хорошо известно, что карнозин — дипептид с антиоксидантными свойствами, который ингибирует карбонилирование и гликозилирование белков, предотвращая образование конечных продуктов гликирования [14]. По-видимому, такой эффект карнозин проявлял и в имевших место условиях нашего эксперимента. Существуют данные, показывающие, что применение карнозина в условиях экспериментального стрептозотоцинового СД в крови крыс приводит к снижению активных форм кислорода и конечных продуктов гликирования [6]. В наших экспериментах



**Рис. 2.** Компьютерный анализ площади сосудов и мезангия в почечных клубочках. Ув.  $\times 400$ .

**Примечание:** а — ШИК-реакция по Мак-Манусу, контрольная группа крыс; б — капилляры клубочка (красные) в контрольной группе крыс; с — мезангиум клубочка (черный) в контрольной группе крыс; д — ШИК-реакция по Мак-Манусу, подопытная группа крыс; е — капилляры клубочка (красные) в подопытной группе крыс; ф — мезангиум клубочка (черный) в подопытной группе крыс.

**Fig. 2.** Computer analysis of the area of blood vessels and mesangia in the renal glomeruli. Magnification  $\times 400$ .

**Note:** а — CHIC-McManus reaction, control group of rats; б — glomerular capillaries (red) in the control group of rats; с — glomerular mesangium (black) in the control group of rats; д — CHIC-McManus reaction, experimental group of rats; е — glomerular capillaries (red) in the experimental group of rats; ф — glomerular mesangium (black) in the experimental group of rats.

также наблюдалось выраженное антиоксидантное действие в почках, о чем свидетельствовали 1,5-кратное уменьшение концентрации ТБРП и двукратный рост ОАА при сопутствующем росте активности каталазы в 1,2 раза.

Применение карнозина сопровождалось существенными благоприятными изменениями в состоянии почечных клубочков, что подтвердили морфологические исследования: происходила нормализация структуры клубочка и наблюдался почти двукратный рост количества подоцитов относительно контрольной группы. Роль повреждения подоцитов в развитии диабетической нефропатии сегодня хорошо известна [5]. Подоциты представляют собой высокоспециализированные эпителиальные клетки, покрывающие внешний слой базальной мембраны клубочков. Подоциты служат конечным барьером для потери белка с мочой благодаря специальному формированию и поддержанию ножных отростков и расположенной между ними щелевой диафрагмы. При диабетической нефропатии, посредством различных механизмов, в т.ч. и под влиянием активных форм кислорода, происходят функциональные и морфологические изменения подоцитов, в основном включая гипертрофию подоцитов, эпителиально-мезенхимальную трансдифференцировку, отслойку и апоптоз подоцитов, что приводит к нарушению барьерной функции почечного клубочка и развитию протеинурии [10, 12, 14]. В наших экспериментах на фоне нормализации структуры и количества подоцитов в моче крыс подопытной группы существенно снижалась концентрация белка, что хорошо согласуется с выявленными у этих животных изменениями структуры почечного клубочка.

Несколько неожиданным стало выявленное понижение концентрации глюкозы в моче крыс подопытной группы, чего изначально не предполагалось. Существуют сведения, что карнозин при СД, нейтрализуя глюколипотоксичные радикалы, усиливает секрецию инсулина и поглощение глюкозы [11]. Кроме того, установлено, что карнозин защищает  $\beta$ -клетки поджелудочной железы от оксидативного повреждения [15].

В заключение отметим, что результаты проведенного исследования вносят вклад в решение поставленного в начале работы вопроса: какой из механизмов внутрипочечной оксидации наиболее значим для развития патологии и на какие мишени должно быть направлено фармакологическое воздействие для более эффективной коррекции диабетической нефропатии? Совокупность результатов, полученных нами ранее [1, 19], и результатов настоящего исследования указывает на то, что наибольшее значение в развитии оксидативного стресса, приводящего к повреждению почек, имеет образование конечных продуктов гликирования, которые следует рассматривать в качестве наиболее перспективной мишени для разработки новых методов таргетной фармакологической коррекции диабетической нефропатии.

## Выводы

Применение карнозина при экспериментальном сахарном диабете приводит к ослаблению оксидативного повреждения почек, что сопровождается уменьшением протеинурии, увеличением количества подоцитов, снижением площади почечных клубочков и улучшением состояния сосудистой системы почечных клубочков.



СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Жариков А.Ю., Филинова С.О., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Бобров И.П., Брюханов В.М. Роль свободнорадикального окисления в почках в нефропротекторном действии блокатора минералокортикоидных рецепторов эплеренона при экспериментальном сахарном диабете. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021;20(2):29–35. [Zhari-kov A.Yu., Filinova S.O., Mazko O.N., Makarova O.G., Bobrov I.P., Bryukhanov V.M. Rol svobodnoradikalnogo okisleniya v pochkakh v nefroprotektornom deystvii blokatora mineralokortikoidnykh retseptorov eplerenona pri eksperimentalnom sakharnom diabete [The role of free radical oxidation in the kidneys in the nephroprotective action of eplerenone, a mineralocorticoid receptor antagonist, in experimental diabetes mellitus]. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021;20(2):29–35. (In Russian)]. DOI: 10.20538/1682-0363-2021-2-29-35.
2. Спасов А.А., Воронкова М.П., Снигур Г.Л., Чепляева Н.И., Чепурнова М.В. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2. *Биомедицина*. 2011;1(3):12–18. [Spasov A.A., Voronkova M.P., Snigur G.L., Cheplyaeva N.I., Chepurnova M.V. Eksperimentalnaya model sakharnogo diabeta tipa 2 [Experimental model of a type 2 diabetes]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2011;1(3):12–18. (In Russian)].
3. Филинова С.О., Жариков А.Ю., Бобров И.П., Мазко О.Н., Макарова О.Г. Патоморфологическая картина диабетической нефропатии при экспериментальном сахарном диабете. *Казанский медицинский журнал*. 2019;100(1):147–152. [Filinova S.O., Zhari-kov A.Yu., Bobrov I.P., Mazko O.N., Makarova O.G. Patomorfologicheskaya kartina diabeticheskoy nefropatii pri eksperimentalnom sakharnom diabete [Pathomorphological picture of diabetic nephropathy in experimental diabetes mellitus]. *Kazan Medical Journal*. 2019;100(1):147–152. (In Russian)]. DOI: 10.17816/KMJ2019-147.
4. Филинова С.О., Жариков А.Ю., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Баландович Б.А. Показатели прооксидантного и антиоксидантного статусов в почках крыс при экспериментальном сахарном диабете. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2020;64(1):124–127. [Filinova S.O., Zhari-kov A.Yu., Bobrov I.P., Mazko O.N., Makarova O.G., Balandovich B.A. Pokazateli prooksidantnogo i antioksidantnogo statusov v pochkakh kryis pri eksperimentalnom sakharnom diabete [Indexes of pro- and antioxidant status in kidneys of rats with experimental diabetes mellitus]. *Pathological Physiology and Experimental Therapy*. 2020;64(1):124–127. (In Russian)]. DOI: 10.25557/0031-2991.2020.01.124-127.
5. Asanuma K. The role of podocyte injury in chronic kidney disease. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*. 2015;38(1):26–36. (In Japanese). DOI: 10.2177/jsci.38.26.
6. Aydın A.F., Bingül İ., Küçükgergin C., Doğan-Ekici I., Doğru Abbasoğlu S., Uysal M. Carnosine decreased oxidation and glycation products in serum and liver of high-fat diet and low-dose streptozotocin-induced diabetic rats. *Int. J. Exp. Pathol*. 2017;98(5):278–288. DOI: 10.1111/iep.12252.
7. Baran E.J. Metal complexes of carnosine. *Biochemistry*. 2000;65:789–797.
8. Bhatti A.B., Usman M. Drug targets for oxidative podocyte injury in diabetic nephropathy. *Cureus*. 2015;7(12):e393. DOI: 10.7759/cureus.393.
9. Boldyrev A.A., Aldini G., Derave W. Physiology and pathophysiology of carnosine. *Physiol Rev*. 2013;93(4):1803–1845. DOI: 10.1152/physrev.00039.2012.
10. Chen Y., Lin L., Tao X., Song Y., Cui J., Wan J. The role of podocyte damage in the etiology of ischemia-reperfusion acute kidney injury and post-injury fibrosis. *BMC Nephrol*. 2019;20(1):106. DOI: 10.1186/s12882-019-1298-x.
11. Cripps M.J., Hanna K., Lavilla C., Jr Sayers S.R., Caton P.W., Sims C., De Girolamo L., Sale C., Turner M.D. Carnosine scavenging of glucolipotoxic free radicals enhances insulin secretion and glucose uptake. *Sci. Rep*. 2017;7(1):13313. DOI: 10.1038/s41598-017-13649-w.
12. Dai H., Liu Q., Liu B. Research Progress on Mechanism of Podocyte Depletion in Diabetic Nephropathy. *J. Diabetes Res*. 2017;261–286. DOI: 10.1155/2017/2615286.
13. Ghodsi R., Kheirouri S. Carnosine and advanced glycation end products: a systematic review. *Amino Acids*. 2018;50(9):1177–1186. DOI: 10.1007/s00726-018-2592-9.
14. Kopp J.B., Anders H.J., Susztak K., Podestà M.A., Remuzzi G., Hildebrandt F., Romagnani P. Podocytopathies. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2020;6(1):68. DOI: 10.1038/s41572-020-0196-7.
15. Miceli V., Pampalona M., Frazziano G., Grasso G., Rizzarelli E., Ricordi C., Casu A., Iannolo G., Conaldi P.G. Carnosine protects pancreatic beta cells and islets against oxidative stress damage. *Mol. Cell Endocrinol*. 2018(474):105–118. DOI: 10.1016/j.mce.2018.02.016.
16. Østergaard J.A., Cooper M.E., Jandeleit-Dahm K.A.M. Targeting oxidative stress and anti-oxidant defence in diabetic kidney disease. *J. Nephrol*. 2020;33(5):917–929. DOI: 10.1007/s40620-020-00749-6.
17. Sago M.K., Gnudi L. Diabetic nephropathy: Is there a role for oxidative stress? *Free Radic. Biol. Med*. 2018(116):50–63. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.12.040.
18. Sharma K. Mitochondrial dysfunction in the diabetic kidney. *Adv. Exp. Med. Biol*. 2017;982:553–562. DOI: 10.1007/978-3-319-55330-6\_28.
19. Zhari-kov A.Yu., Filinova S.O., Mazko O.N., Makarova O.G., Bobrov I.P. Direct Pharmacological Correction of Oxidative Stress in Rat Kidneys Does Not Facilitate Diabetic Nephropathy. *International J. of Biomedicine*. 2021;11(3):296–300. DOI: 10.21103/Article11(3)OA8.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Жариков Александр Юрьевич\***, д.б.н., доц.,  
ФГБОУ ВО «Алтайский государственный меди-  
цинский университет» Минздрава России;  
**e-mail: [zharikov@asmu.ru](mailto:zharikov@asmu.ru)**

**Alexander Yu. Zharikov\***, Dr. Sci. (Biol.), Assoc.  
Prof., Altai State Medical University of the Ministry  
of Health Care of Russia;  
**e-mail: [zharikov\\_a\\_v@mail.ru](mailto:zharikov_a_v@mail.ru)**

**Филинова Светлана Олеговна**, ФГБОУ ВО  
«Алтайский государственный медицинский  
университет» Минздрава России;  
**e-mail: [Filinova.87@inbox.ru](mailto:Filinova.87@inbox.ru)**

**Svetlana O. Filinova**, Altai State Medical  
University of the Ministry of Health Care of Russia;  
**e-mail: [Filinova.87@inbox.ru](mailto:Filinova.87@inbox.ru)**

**Мазко Олеся Николаевна**, к.фарм.н., доц.,  
ФГБОУ ВО «Алтайский государственный меди-  
цинский университет» Минздрава России;  
**e-mail: [olesia.mazko@yandex.ru](mailto:olesia.mazko@yandex.ru)**

**Olesya N. Mazko**, Cand. Sci. (Pharm.), Assoc.  
Prof., Altai State Medical University of the Ministry  
of Health Care of Russia;  
**e-mail: [olesia.mazko@yandex.ru](mailto:olesia.mazko@yandex.ru)**

**Бобров Игорь Петрович**, д.м.н., проф., ФГБОУ  
ВО «Алтайский государственный медицинский  
университет» Минздрава России;  
**e-mail: [ig.bobrov2010@yandex.ru](mailto:ig.bobrov2010@yandex.ru)**

**Igor P. Bobrov**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Altai State  
Medical University of the Ministry of Health Care  
of Russia;  
**e-mail: [ig.bobrov2010@yandex.ru](mailto:ig.bobrov2010@yandex.ru)**

**Макарова Олеся Геннадьевна**, к.фарм.н., доц.,  
ФГБОУ ВО «Алтайский государственный меди-  
цинский университет» Минздрава России;  
**e-mail: [olesia552@mail.ru](mailto:olesia552@mail.ru)**

**Olesya G. Makarova**, Cand. Sci. (Pharm.), Assoc.  
Prof., Altai State Medical University of the Ministry  
of Health Care of Russia;  
**e-mail: [olesia552@mail.ru](mailto:olesia552@mail.ru)**

**Кальницкий Артем Сергеевич**, ФГБОУ ВО  
«Алтайский государственный медицинский  
университет» Минздрава России;  
**e-mail: [artem\\_kalnitsky@mail.ru](mailto:artem_kalnitsky@mail.ru)**

**Artem S. Kalnitsky**, Altai State Medical University  
of the Ministry of Health Care of Russia;  
**e-mail: [artem\\_kalnitsky@mail.ru](mailto:artem_kalnitsky@mail.ru)**

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



## ВЛИЯНИЕ ГЛИПРОЛИНОВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И БЕЛКОВ В ГИПОТАЛАМИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПЕРТИРЕОЗА

М.У. Сергалиева\*, А.А. Цибизова, М.А. Самотруева

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России  
414000, Российская Федерация, Астрахань, ул. Бакинская, 121

Настоящее исследование посвящено изучению влияния нейропептидов глипролинового ряда на перекисное окисление липидов и белков в гипоталамической области головного мозга крыс в условиях экспериментального гипертиреоза. Состояние гипертиреоза у животных моделировали путем внутривенного введения пентагидрата натриевой соли L-тироксина в дозе 150 мкг/кг в течение 21 дня. Были сформированы экспериментальные группы (n=10): 1) контрольная группа — интактные животные (контроль); 2) животные, получавшие пентагидрат натриевой соли L-тироксина (гипертиреоз); 3) крысы, получавшие Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (селанк); 4) особи, получавшие Pro-Gly-Pro (в дозах 87 и 33 мкг/кг/сут соответственно) внутривенно ежедневно в течение 21 дня начиная через сутки после последнего введения пентагидрата натриевой соли L-тироксина. Об уровне процессов перекисного окисления липидов судили по содержанию в гомогенате ткани гипоталамической области исходного уровня ТБК-реактивных продуктов, показателем скорости спонтанного и аскорбатзависимого перекисного окисления липидов. Продукты перекисного окисления белков определяли по реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразоном. Оценку ферментативного звена антиоксидантной системы гипоталамической области осуществляли, определяя активность супероксиддисмутазы и каталазы. На фоне введения соединений Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro в условиях экспериментального гипертиреоза установлено уменьшение интенсивности процессов перекисного окисления липидов, белков и восстановление уровней активности антиоксидантных ферментов — супероксиддисмутазы и каталазы в ткани гипоталамической области. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в условиях экспериментального гипертиреоза соединения Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro проявляют антиоксидантную и антирадикальную активность в отношении параметров липопероксидации и окислительной модификации белков, а также ферментативных систем защиты в ткани гипоталамической области головного мозга лабораторных животных.

**Ключевые слова:** гипертиреоз, глипролины, селанк, антиоксидантная активность, антирадикальная активность

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

**Для цитирования:** Сергалиева М.У., Цибизова А.А., Самотруева М.А. Влияние глипролинов на перекисное окисление липидов и белков в гипоталамической области в условиях экспериментального гипертиреоза. *Биомедицина*. 2024;20(1):62–72. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-62-72>

Поступила 09.03.2023

Принята после доработки 07.10.2023

Опубликована 10.03.2024

## EFFECTS OF GLYPROLINS ON LIPID AND PROTEIN PEROXIDATION IN THE HYPOTHALAMIC REGION IN EXPERIMENTAL HYPERTHYROIDISM

Mariyam U. Sergalieva\*, Aleksandra A. Tsibizova, Marina A. Samotruева

*Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia  
414000, Russian Federation, Astrakhan, Bakinskaya Str., 121*

We investigate effects of glyproline-type neuropeptides on lipid and protein peroxidation in the hypothalamic brain region of rats under the conditions of experimental hyperthyroidism. The state of hyperthyroidism in animals was simulated by intragastric administration of sodium pentahydrate of L-thyroxine at a dose of 150 µg/kg for 21 days. The following experimental groups (n=10) were formed: 1) control group — intact animals (control); 2) animals treated with L-thyroxine sodium salt pentahydrate (hyperthyroidism); 3) animals treated with Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (celank); 4) animals treated with Pro-Gly-Pro (doses of 87 and 33 µg/kg/day, respectively) intraperitoneally daily during 21 days starting one day after the last administration of sodium pentahydrate of L-thyroxine. The level of lipid peroxidation processes was assessed by the initial level of TBA-reactive products, spontaneous and ascorbate-dependent lipid peroxidation rates in hypothalamic tissue homogenate. Protein peroxidation products were determined by the reaction between oxidized amino acid residues of proteins and 2,4-dinitrophenylhydrazine. The enzymatic part of the antioxidant system of hypothalamic region was estimated by measuring the activity of superoxide dismutase and catalase. In the setting of Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro and Pro-Gly-Pro administration under experimental hyperthyroidism, the intensity of lipid and protein peroxidation processes was decreased, while the activity of antioxidant enzymes-superoxide dismutase and catalase was restored in the hypothalamic tissue. The experimental data obtained indicate that, under the conditions of experimental hyperthyroidism, Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro and Pro-Gly-Pro compounds exhibit an antioxidant and antiradical activity with respect to parameters of lipoperoxidation and oxidative modification of proteins, as well as with respect to enzymatic defense systems in the hypothalamic brain region of laboratory animals.

**Keywords:** hyperthyroidism, glyprolines, selank, antioxidant activity, antiradical activity

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

**For citation:** Sergalieva M.U., Tsibizova A.A., Samotruева M.A. Effects of Glyprolins on Lipid and Protein Peroxidation in the Hypothalamic Region in Experimental Hyperthyroidism. *Journal Biomed.* 2024;20(1):62–72. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-62-72>

*Submitted 09.03.2023*

*Revised 07.10.2023*

*Published 10.03.2024*

### Введение

Дисфункция щитовидной железы (ЩЖ) на сегодня относится к одной из значимых патологий эндокринной системы [17]. Доказано, что патологические нарушения в ЩЖ приводят к функциональным изменениям различных систем организма: нервной, иммунной, сердечно-сосудистой, антиоксидантной и др. [2, 6]. Тиреоидные гормоны, выделяемые ЩЖ, являются важ-

ными модификаторами метаболизма, которые активируют окислительно-восстановительные реакции, влияют на скорость потребления кислорода и на все виды обмена (углеводный, жировой, водно-солевой, белковый, энергетический), а также обладают способностью влиять на синтез, мобилизацию, фрагментацию и уровень липидов. Установлено, что высокие концентрации тиреоидных гормонов повыша-

ют потребность тканей в кислороде, стимулируют рост и дифференцировку клеток, образование свободных радикалов в митохондриях, что приводит к окислительному повреждению тканей в результате повышенного производства активных форм кислорода [3, 19].

Установлено, что патология щитовидной железы часто сопровождается дисфункцией гипоталамической области головного мозга. Доказано, что тиреоидные гормоны посредством отрицательной и положительной связи оказывают непосредственное влияние на гипоталамус, в результате чего нарушается координация взаимодействия эндокринных, нейробиологических и вегетативных реакций, что демонстрируется при гипертиреозе [2, 20].

Учитывая влияние избыточного уровня тиреоидных гормонов ЩЖ на механизм развития различных патологических нарушений, возникает необходимость поиска и изучения средств коррекции антиоксидантного статуса организма [20].

В последнее время пристальное внимание среди исследователей уделяется препаратам пептидной природы, целесообразность применения которых обоснована их широким спектром фармакологической активности. В экспериментах на крысах обнаружено, что препарат «Селанк» и соединения Pro-Gly-Pro-Leu и Pro-Gly-Pro в условиях стресса обладают антиоксидантными свойствами [8, 10]. Однако, несмотря на достаточное количество работ, посвященных изучению фармакологических свойств глипролинов, остается очевидной необходимость проведения дополнительных экспериментальных исследований по изучению их влияния на антиоксидантный статус в условиях экспериментальной патологии щитовидной железы.

**Целью** исследования явилось изучение влияния глипролинов на перекисное окисление липидов и белков в гипоталамиче-

ской области головного мозга в условиях экспериментального гипертиреоза.

## Материалы и методы

Изучение влияния глипролиновых соединений на перекисное окисление липидов (ПОЛ) и белков (ПОБ) в ткани гипоталамической области головного мозга проводилось на белых крысах-самцах 6–8-месячного возраста в соответствии с правилами лабораторной практики (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96). Все манипуляции с животными проводили в соответствии с требованиями Директивы Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях (2010/63/EU), правилами, принятыми «Международной конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986). Исследования одобрены этическим комитетом ФГБОУ ВО АстГМУ Минздрава России. Экспериментальный гипертиреоз моделировали путем внутрижелудочного введения пентагидрата натриевой соли L-тироксина фирмы «Sigma» (США) в дозе 150 мкг/кг в течение 21 дня. Доза пентагидрата натриевой соли L-тироксина выбрана в результате предварительных исследований как наиболее активная. Лабораторных животных разделяли на группы (n=10): 1) контрольная группа — интактные животные (контроль); 2) животные, получавшие пентагидрат натриевой соли L-тироксина (гипертиреоз); 3) крысы, получавшие Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (селанк); 4) особи, получавшие Pro-Gly-Pro в дозах 87 и 33 мкг/кг/сут соответственно внутрибрюшинно ежедневно в течение 21 дня начиная через 1 сут. после последнего введения пентагидрата натриевой соли L-тироксина. Глипролиновые соединения вводили в дозе 1/10 от их молекулярной массы.

Развитие тиреопатологии подтверждали, оценивая концентрацию свободных тироксина (Т4), трийодтиронина (Т3), тиреотропного

гормона (ТТГ) в сыворотке крови, поведение животных, измеряя массу тела подопытных животных, частоту сердечных сокращений (ЧСС), ректальную температуру.

После выведения животных из эксперимента извлекали головной мозг для последующей гомогенизации, экстрагирования ткани в гипоталамической области и биохимического анализа. Об уровне процессов ПОЛ судили по содержанию в гомогенате ткани гипоталамической области исходного уровня ТБК-реактивных продуктов (комплекс продуктов ПОЛ с 2-тиобарбитуровой кислотой), скоростей спонтанного и аскорбатзависимого ПОЛ. Содержание продуктов ПОЛ оценивали спектрофотометрическим методом, основанным на определении малонового диальдегида, образующего розовый триметиновый комплекс при взаимодействии с ТБК, на спектрофотометре ПЭ-5400В (Россия) при длине волны 532 нм [1].

Продукты ПОБ в ткани гипоталамической области определяли по реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразоном (2-ДФГ). Регистрировали первичные — альдегидфенилгидразоны (АФГ) при  $\lambda=270$  нм и вторичные — кетонфенилгидразоны (КФГ) продукты реакции при  $\lambda=363$  и 370 нм [4].

Оценку ферментативного звена антиоксидантной системы гипоталамической области осуществляли, определяя активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы. Активность СОД регистрировали по интенсивности ингибирования источником фермента восстановления нитросинего тетразолия при  $\lambda=540$  нм [9]. Уровень активности каталазы определяли спектрофотометрическим методом при  $\lambda=410$  нм, принцип которого основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс [5]. Измерения фиксировали на спектрофотометре ПЭ-5400В (Россия).

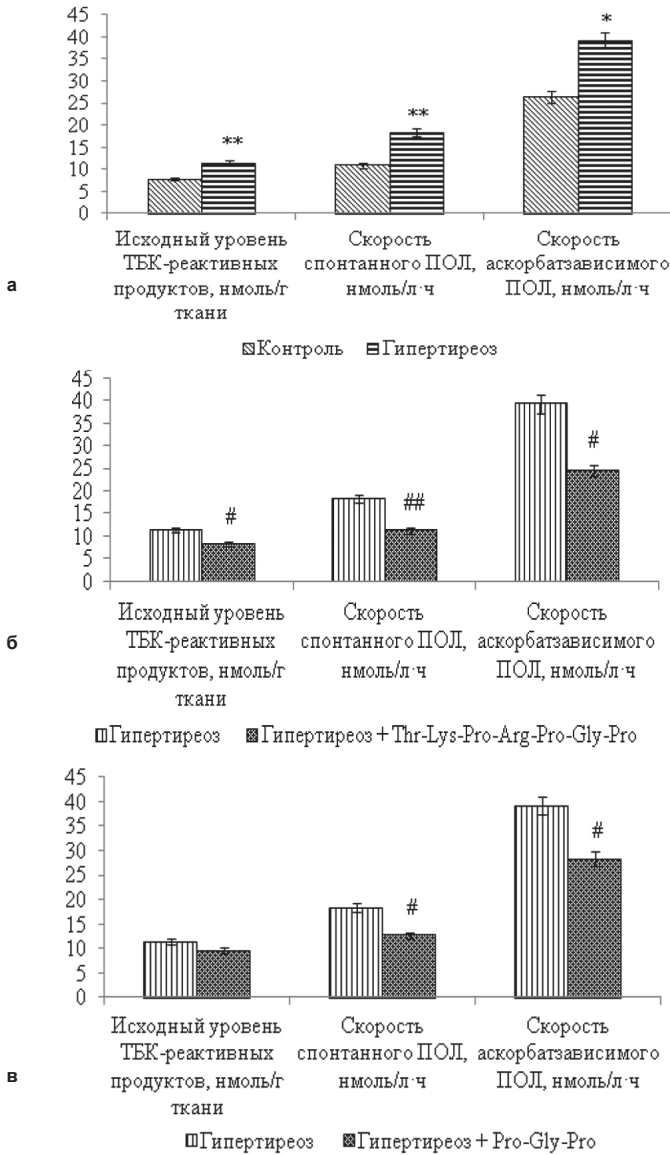
Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Excel и программного обеспечения Biostat (AnalystSoft Inc., Канада) с учетом критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты и их обсуждение

При проведении исследования развитие гипертиреоза подтверждалось увеличением в сравнении с интактным контролем уровней Т3 — в 1,6 раза ( $p \leq 0,01$ ) и Т4 — в 2,4 раза ( $p \leq 0,01$ ); снижением уровня ТТГ в 2,6 раза ( $p \leq 0,05$ ), а также агрессивным поведением грызунов, что проявлялось в формировании межсамцовых конфронтаций; видимыми изменениями шерстяного покрова; снижением массы тела на 30% ( $p \leq 0,05$ ); увеличением ЧСС на 42% ( $p \leq 0,01$ ) и повышением ректальной температуры (достигала  $39,3 \pm 0,2^\circ\text{C}$ ).

Накопленные научные данные свидетельствуют о том, что гиперметаболическое состояние при гипертиреозе связано с увеличением производства свободных радикалов и уровня перекиси липидов. В нашем исследовании у крыс с моделью гипертиреоза наблюдалось увеличение продуктов липопероксидации в ткани гипоталамической области: исходный уровень ТБК-реактивных продуктов на 46% ( $p \leq 0,01$ ), скорости спонтанного и аскорбатзависимого ПОЛ — на 67% ( $p \leq 0,01$ ) и 48% ( $p \leq 0,05$ ) соответственно по сравнению с группой «контроль» (рис. 1а).

Выявлено, что введение Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro в условиях экспериментального гипертиреоза привело к повышению в ткани гипоталамической области исходного уровня ТБК-реактивных продуктов на 27% ( $p \leq 0,05$ ) и 15% ( $p \geq 0,05$ ), скорости спонтанного ПОЛ на 39% ( $p \leq 0,01$ ) и 22% ( $p \leq 0,05$ ), скорости аскорбатзависимого ПОЛ на 37% и 27% ( $p \leq 0,05$ ) соответ-

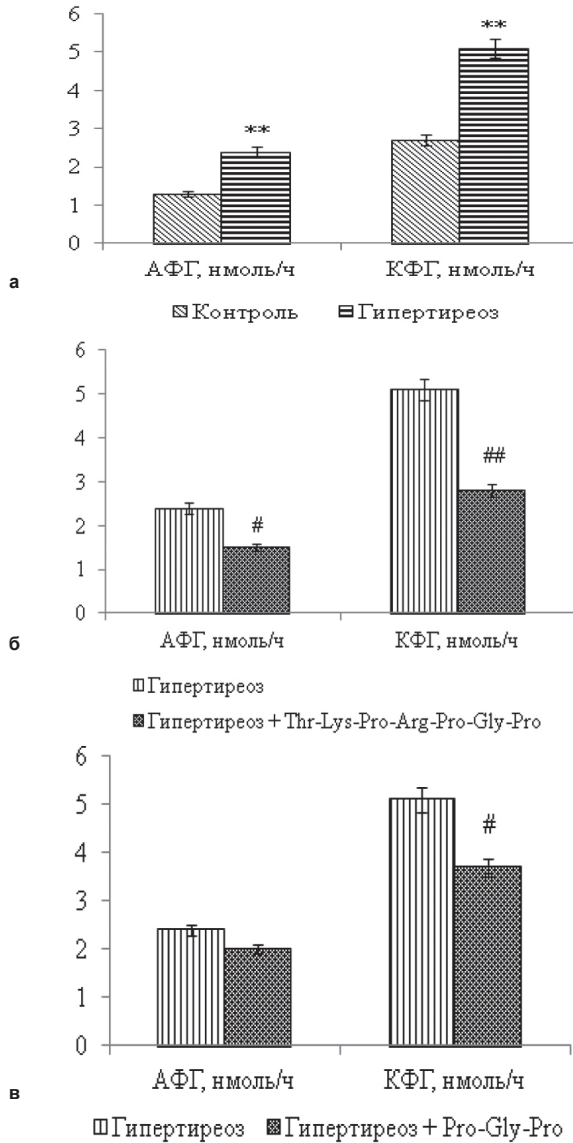


**Рис. 1.** Влияние глипролинов на показатели перекисного окисления липидов в гипоталамической области головного мозга крыс в условиях экспериментального гипертиреоза (а — сравнение групп «контроль» и «гипертиреоз»; б — сравнение групп «гипертиреоз» и «гипертиреоз + Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro»; в — сравнение групп «гипертиреоз» и «гипертиреоз + Pro-Gly-Pro»).

**Примечание:** \* —  $p \leq 0,05$ ; \*\* —  $p \leq 0,01$  — относительно контроля; # —  $p \leq 0,05$ ; ## —  $p \leq 0,01$  — относительно гипертиреоза.

**Fig. 1.** Effect of glyprolins on lipid peroxidation in the hypothalamic region of the rat brain under experimental hyperthyroidism (a — comparison of “control” and “hyperthyroidism” groups; б — comparison of “hyperthyroidism” and “hyperthyroidism + Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro” groups; в — comparison of “hyperthyroidism” and “hyperthyroidism + Pro-Gly-Pro” groups).

**Note:** \* —  $p \leq 0.05$ ; \*\* —  $p \leq 0.01$  — relative to control; # —  $p \leq 0.05$ ; ## —  $p \leq 0.01$  — relative to hyperthyroidism.



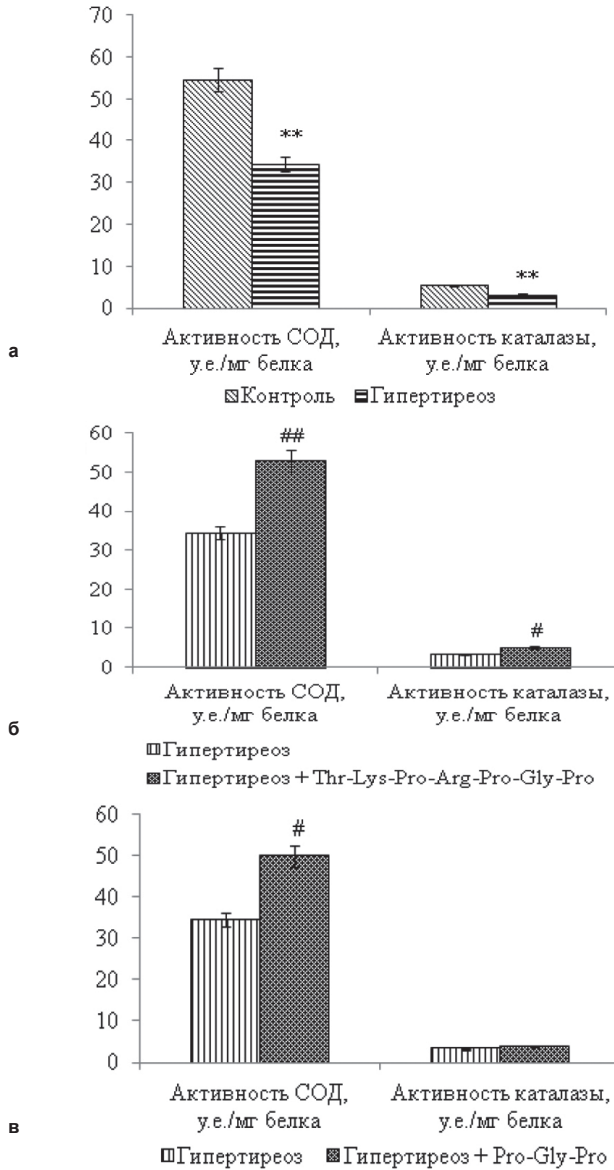
**Рис. 2.** Влияние глипролинов на показатели перекисного окисления белков в гипоталамической области головного мозга крыс в условиях экспериментального гипертиреоза (а — сравнение групп «контроль» и «гипертиреоз»; б — сравнение групп «гипертиреоз» и «гипертиреоз + Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro»; в — сравнение групп «гипертиреоз» и «гипертиреоз + Pro-Gly-Pro»).

**Примечание:** \* —  $p \leq 0,05$ ; \*\* —  $p \leq 0,01$  — относительно контроля; # —  $p \leq 0,05$ ; ## —  $p \leq 0,01$  — относительно гипертиреоза.

**Fig. 2.** Effect of glyprolins on protein peroxidation in the hypothalamic region of the rat brain under experimental hyperthyroidism (a — comparison of “control” and “hyperthyroidism” groups; б — comparison of “hyperthyroidism” and “hyperthyroidism + Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro” groups; в — comparison of “hyperthyroidism” and “hyperthyroidism + Pro-Gly-Pro” groups).

**Note:** \* —  $p \leq 0.05$ ; \*\* —  $p \leq 0.01$  — relative to control; # —  $p \leq 0.05$ ; ## —  $p \leq 0.01$  — relative to hyperthyroidism.





**Рис. 3.** Влияние глипролинов на показатели ферментативного звена в гипоталамической области головного мозга крыс в условиях экспериментального гипертиреоза (а — сравнение групп «контроль» и «гипертиреоз»; б — сравнение групп «гипертиреоз» и «гипертиреоз + Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro»; в — сравнение групп «гипертиреоз» и «гипертиреоз + Pro-Gly-Pro»).

**Примечание:** \* —  $p \leq 0,05$ ; \*\* —  $p \leq 0,01$  — относительно контроля; # —  $p \leq 0,05$ ; ## —  $p \leq 0,01$  — относительно гипертиреоза.

**Fig. 3.** The effect of glyprolins on the parameters of the enzymatic link in the hypothalamic region of the rat brain under conditions of experimental hyperthyroidism (a — comparison of “control” and “hyperthyroidism” groups; б — comparison of “hyperthyroidism” and “hyperthyroidism + Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro” groups; в — comparison of “hyperthyroidism” and “hyperthyroidism + Pro-Gly-Pro” groups).

**Note:** \* —  $p \leq 0.05$ ; \*\* —  $p \leq 0.01$  — relative to control; # —  $p \leq 0.05$ ; ## —  $p \leq 0.01$  — relative to hyperthyroidism.

ственно относительно группы «гипертиреоз» (рис. 1б, в).

Влияние глипролинов на показатели ПОБ в гипоталамической области в условиях экспериментального гипертиреоза показано на рис. 2. Развитие экспериментального гипертиреоза привело к повышению показателей ПОБ — в частности, АФГ на 84% и КФГ — на 89% ( $p \leq 0,01$ ) по сравнению с контрольными значениями (рис. 2а).

Установлено, что применение соединений Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro на фоне экспериментального гипертиреоза способствовало снижению содержания в ткани гипоталамической зоны АФГ на 37% ( $p \leq 0,05$ ) и 17% ( $p \geq 0,05$ ) и КФГ — на 45% ( $p \leq 0,01$ ) и 27% ( $p \leq 0,05$ ) соответственно в сравнении с животными группы «гипертиреоз» (рис. 2б, в).

Доказано, что свободные радикалы кислорода образуются в процессе окислительного метаболизма и контролируются ферментативными и неферментативными системами. СОД и каталаза являются основными внутриклеточными ферментативными системами защиты от свободных радикалов и производных кислорода. При оценке результатов, полученных в ходе исследования, выявлено снижение уровней активности антиоксидантных ферментов в ткани гипоталамической области на фоне гипертиреоза. Так, у животных с моделью экспериментального гипертиреоза уменьшились уровни активности СОД на 36% и каталазы — на 38% ( $p \leq 0,01$ ) относительно контрольных особей (рис. 3а).

Курсовое введение глипролиновых соединений в условиях экспериментального гипертиреоза способствовало увеличению уровней активности антиоксидантных ферментов. Так, в группе крыс, получавших Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro, наблюдалось повышение уровней СОД на 53% ( $p \leq 0,01$ ) и 44% ( $p \leq 0,05$ ) и каталазы на 54% ( $p \leq 0,05$ ) и 18% ( $p \geq 0,05$ ) соответ-

ственно относительно группы «гипертиреоз» (рис. 3б, в).

По результатам нашего исследования выявлено, что развитие гипертиреоидного состояния сопровождалось активацией продуктов ПОЛ, ПОБ на фоне снижения активности антиоксидантных ферментов в ткани гипоталамической области головного мозга лабораторных животных. Полученные результаты подтверждаются исследованиями других ученых. Анализ научной литературы показывает, что избыточный уровень гормонов ЩЖ, регулирующих энергетический обмен, воздействуя на митохондрии, способствует образованию свободных радикалов, чрезмерное количество которых способствует развитию оксидативного стресса и повреждению тканей [11, 13, 16]. Установлено, что нейроны более восприимчивы, чем другие клетки, к повреждению свободными радикалами из-за большого содержания липидов в миелиновых оболочках и высокой скорости окислительного метаболизма головного мозга [7, 18].

Применение соединений Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro в условиях экспериментального гипертиреоза привело к изменениям интенсивности процессов ПОЛ, ПОБ и восстановлению уровней активности антиоксидантных ферментов — СОД и каталазы в гипоталамической области головного мозга крыс. Мы предполагаем, что молекулы Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro, проникая через гематоэнцефалический барьер, блокируют повреждения, вызванные ПОЛ, а также участвуют в инактивации свободных радикалов [12, 14, 15].

## Закключение

Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в условиях экспериментального гипертиреоза соединения Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro проявляют антиоксидантную и антирадикальную активность

в отношении параметров липопероксидации и окислительной модификации белков, а также ферментативных систем защиты

(СОД и каталазы) в ткани гипоталамической области головного мозга лабораторных животных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Богачева Е.В., Алабовский В.В., Перов С.Ю. Определение концентрации малонового диальдегида в сыворотке крыс, облученных электромагнитным полем метрового диапазона. *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология*. 2016;1:70–74. [Bogacheva E.V., Alabovskiy V.V., Perov S.Yu. Opredelenie kontsentratsii malonovogo dial'degida v syvorotke kryss, obluchennykh elektromagnitnym polem metrovogo diapazona [Determination of the concentration of malondialdehyde in the serum of rats irradiated with an electromagnetic field of the meter range]. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya Khimiya. Biologiya. Ekologiya*. 2016;1:70–74. (In Russian)].
2. Волкова А.Р., Дыгун О.Д., Галкина О.В., Белякова Л.А., Богданова Е.О. Роль субклинического гипотиреоза в формировании нарушений липидного метаболизма. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2019;2(66):155–159. [Volkova A.R., Dygun O.D., Galkina O.V., Belyakova L.A., Bogdanova E.O. Rol' subklinicheskogo gipotireoza v formirovaniy narusheniy lipidnogo metabolizma [The role of subclinical hypothyroidism in the formation of lipid metabolism disorders]. *Vestnik Rossiyskoy VoЕННО-meditsinskoy akademii* [Bulletin of the Russian Military Medical Academy]. 2019;2(66):155–159. (In Russian)]. DOI: 10.17816/brmma25936.
3. Дора С.В., Рыбакова М.Г., Алексеев Д.А., Крылова Ю.С., Волкова А.Р., Белякова Л.А., Волкова Е.В. Апоптоз и пролиферация тиреоцитов как предикторы послеоперационных исходов у пациентов, прооперированных по поводу диффузного токсического зоба. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2017;2(58):86–91. [Dora S.V., Rybakova M.G., Alekseev D.A., Krylova Y.S., Volkova A.R., Belyakova L.A., Volkova E.V. Apoptoz i proliferatsiya tireotsitov kak prediktory послеoperatsionnykh iskhodov u patsientov, prooperirovannykh по поводу diffuznogo toksicheskogo zoba [Apoptosis and proliferation of thyrocytes as predictors of postoperative outcomes in patients operated for diffuse toxic goiter]. *Vestnik Rossiyskoy VoЕННО-meditsinskoy akademii* [Bulletin of the Russian Military Medical Academy]. 2017;2(58):86–91. (In Russian)].
4. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Портов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения. *Вопросы медицинской химии*. 1995;41(1):24–26. [Dubinina E.E., Burmistrov S.O., Khodov D.A., Porte I.G. Okislitel'naya modifikatsiya belkov syvorotki krovi cheloveka, metod ee opredeleniya [Oxidative modification of human serum proteins, method of its determination]. *Voprosy meditsinskoy khimii* [Questions of medical chemistry]. 1995;41(1):24–26. (In Russian)].
5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майрова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988;1:16–19. [Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokarev V.E. Metod opredeleniya aktivnosti katalazy [Method for determining catalase activity]. *Laboratornoe delo* [Laboratory business]. 1988;1:16–19. (In Russian)].
6. Сергалиева М.У., Цибилова А.А., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф., Башкина О.А., Самотруева М.А. Влияние глипролинов на показатели белой крови и фагоцитарную активность нейтрофилов в условиях экспериментального гипертиреоза. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2022;24(1):55–60. [Sergalieva M.U., Tsbizova A.A., Andreeva L.A., Myasoedov N.F., Bashkina O.A., Samotrueva M.A. Vliyaniye glyprolinov na pokazateli beloy krovi i fagotsitarnuyu aktivnost' neytrofilov v usloviyakh eksperimental'nogo gipertireoza [The effect of glyprolins on white blood parameters and phagocytic activity of neutrophils in experimental hyperthyroidism]. *Vestnik Rossiyskoy VoЕННО-meditsinskoy akademii* [Bulletin of the Russian Military Medical Academy]. 2022;24(1):55–60. (In Russian)]. DOI: 10.17816/brmma88670.
7. Сергалиева М.У., Цибилова А.А., Абдулкадырова Э.И., Андреева Л.А., Самотруева М.А., Мясоедов Н.Ф. Изучение влияния глипролинов на поведение лабораторных животных в условиях экспериментального гипертиреоза. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2021;23(4):179–186. [Sergalieva M.U., Tsbizova A.A., Abdulkadyrova E.I., Andreeva L.A., Samotrueva M.A., Myasoedov N.F. Izucheniye vliyaniya glyprolinov na povedeniye laboratornykh zivotnykh v usloviyakh eksperimental'nogo gipertireoza [Study of the effect of glyprolins on the behavior of laboratory animals under experimental hyperthyroidism]. *Vestnik Rossiyskoy VoЕННО-meditsinskoy akademii* [Bulletin of the Russian Military Medical Academy]. 2021;23(4):179–186. (In Russian)]. DOI: 10.17816/brmma88670.

8. Флейшман М.Ю., Толстенек И.В., Иннокентьев А.А. Влияние пептида «Селанк» на уровень окислительного стресса в головном мозге и тонкой кишке белых крыс на модели черепно-мозговой травмы. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019;39(2):46–51. [Fleishman M.Yu., Tolstenok I.V., Innokentiev A.A. Vliyanie peptida «Selank» na uroven' okislitel'nogo stressa v golovnom mozge i tonkoj kishke belykh kryс na modeli cherepno-mozgovoy travmy [The effect of Selank peptide on the level of oxidative stress in the brain and small intestine of white rats on models of traumatic brain injury]. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal [Siberian Scientific Medical Journal]*. 2019;39(2):46–51. (In Russian)]. DOI: 10.15372/SSMJ20190205.
9. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах. *Лабораторное дело*. 1985;11:678–681. [Chevari S. Rol' superoksid-dismutazy v okislitel'nykh protsessakh kletki i metod opredeleniya ee v biologicheskikh materialakh [The role of superoxide dismutase in the oxidative processes of the cell and the method of determining it in biological materials]. *Laboratornoe delo [Laboratory business]*. 1985;11:678–681. (In Russian)].
10. Ясенявская А.Л., Сомотруева М.А., Цибилова А.А., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А. Влияние глипролинов на перекисное окисление липидов в гипоталамической и префронтальной областях головного мозга в условиях «социального» стресса. *Астраханский медицинский журнал*. 2020;15(3):79–85. [Yasen'yavskaya A.L., Samotru-eva M.A., Tsi-bizova A.A., Myasoedov N.F., Andre-eva L.A. Vliyanie gli-prolinov na perекisnoe okislenie lipidov v gipotalamicheskoy i prefrontal'noy oblasti-yakh golovnogo mozga v uslovi-yakh «sotsial'nogo» stressa [The effect of glyprolins on lipid peroxidation in the hypothalamic and prefrontal regions of the brain under conditions of «social» stress]. *Astrakhan Medical Journal*. 2020;15(3):79–85. (In Russian)]. DOI: 10.17021/2020.15.3.79.85.
11. Arcos M.L.B. Role of thyroid hormones-induced oxidative stress on cardiovascular physiology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2022; 130239. DOI: 10.1016/j.bbagen.2022.130239.
12. Ben-Shushan S., Miller Y. Neuropeptides: Roles and activities as metal chelators in neurodegenerative diseases. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2021;125(11):2796–2811. DOI: 10.1021/acs.jpcc.0c11151.
13. Chainy G.B., Sahoo D.K. Hormones and oxidative stress: an overview. *Free Radical Research*. 2020;54(1):1–26. DOI: 10.1080/10715762.2019.1702656.
14. Fedorov V.N., Koroleva S.V., Zubova T.A., Andre-eva L.A. Preparations based on regulatory peptides are a new class of medicines. *Neurochemist. J. J*. 2020;14:362–374. DOI: 10.1134/S1819712420040121.
15. Filippenkov I.B., Dergunova L.V., Limborskaya S.A., Myasoedov N.F. Neuroprotective effects of peptides in the brain: a transcriptomic approach. *Biochemistry Moscow*. 2020;85:279–287. DOI: 10.1134/S0006297920030037.
16. Rahman R., Rajar H.I., Ashraf M., Iqbal N., Lalani S., Alom F. The role of oxidative stress and altered thyroid hormones in unexplained infertility. *Journal of the Pakistan Medical Association*. 2020;70(8):1345–1349.
17. Rashad N.M., Samir G.M. Prevalence, risks and concomitant pathology of thyroid dysfunction: a cross-epidemiological study. *Egypt J. Intern. Med*. 2019;31:635–641. DOI: 10.4103/ejim.ejim\_22\_19.
18. Saklani P., Khan H., Gupta S., Kaur A., Singh T.G. Neuropeptides: Potential neuroprotective agents in ischemic injury. *Life Sciences*. 2022;288:120186. DOI: 10.1016/j.lfs.2021.120186.
19. Sies H. Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(9):852. DOI: 10.3390/antiox9090852.
20. Teixeira P.D.F.D.S., Dos Santos P.B., Pazos-Moura C.C. The role of thyroid hormone in metabolism and metabolic syndrome. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*. 2020;11:2042018820917869. DOI: 10.1177/2042018820917869.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Сергалиева Мариям Утежановна\*, к.б.н.,  
ФГБОУ ВО «Астраханский государственный  
медицинский университет» Минздрава России;  
e-mail: [charlina\\_astr@mail.ru](mailto:charlina_astr@mail.ru)

Цибилова Александра Александровна, к.фарм.н.,  
ФГБОУ ВО «Астраханский государственный ме-  
дицинский университет» Минздрава России;  
e-mail: [sasha3633@yandex.ru](mailto:sasha3633@yandex.ru)

Mariyam U. Sergalievа\*, Cand. Sci. (Biol.),  
Astrakhan State Medical University of the Ministry  
of Health Care of Russia;  
e-mail: [charlina\\_astr@mail.ru](mailto:charlina_astr@mail.ru)

Aleksandra A. Tsi-bizova, Cand. Sci. (Pharm.),  
Astrakhan State Medical University of the Ministry  
of Health Care of Russia;  
e-mail: [sasha3633@yandex.ru](mailto:sasha3633@yandex.ru)

**Самотруева Марина Александровна**, д.м.н.,  
проф., ФГБОУ ВО «Астраханский государст-  
венный медицинский университет» Минздрава  
России;  
**e-mail: [ms1506@mail.ru](mailto:ms1506@mail.ru)**

**Marina A. Samotrueva**, Dr. Sci. (Med.), Prof.,  
Astrakhan State Medical University of the Ministry  
of Health Care of Russia;  
**e-mail: [ms1506@mail.ru](mailto:ms1506@mail.ru)**

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author



### *Thanks, Юрий Степанович*

**Фармакодинамика.** Первая попытка Юрия Степановича МАКЛЯКОВА получить к своей фамилии гордую приставку «фармаколог» завершилась полным фиаско при попытке поступить в аспирантуру 1-го МОЛМИ. Но он не отчаялся – победила динамика его природы. Когда в том же 1970 году на кафедре фармакологии Ростовского мединститута появился высокий, импозантный лейтенант и с обаятельной улыбкой рассказал, что, занимаясь в кружке фармакологии Читинского мединститута, а затем в период службы в Советской армии, он динамично пытался корректировать предначертанный Судьбой жизненный путь, все поняли: из него будет толк. Но только когда он успешно защитил

диссертацию о психофармакологии гиппокампа, стало ясно, что новый фармаколог состоялся. Его динамизм подправил нить судьбы, а дочери Зевса и Фемиды махнули ему пальмовой ветвью: быть тому.

**Фармакокинетика.** Простыми словами, кинетика – это микроскопическая теория процессов в неравновесных средах, да ещё и под воздействием внешних сил. А внешних сил и процессов в медицинском сообществе и в ВУЗе более чем достаточно: общественная работа, философские семинары, бесконечные заседания научных и ненаучных обществ, дополнительные занятия с иностранными студентами, сопровождение студентов на сельхозработы и овощебазы, лекции, курации, выполнение заданий по Гособоронзаказу. Не всем дано сочетать это с интенсивным научным поиском, но Юрий Степанович все успевает и вершит с неизменной доброжелательностью и эмпатией к коллегам. Возможно, поэтому его личная кинетика в фармакологии дает ему звания и должности доцента, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой фармакологии и клинической фармакологии. Поистине, в движении жизнь и судьба.

**Фармакогенетика.** Не строго научное определение генетики представляется как способность передавать потомкам базовые признаки накопленного опыта и персонализированные стимулы развития. В этом Юрий Степанович преуспевает. Он прекрасный научный руководитель десятков аспирантов, 30-ти кандидатов, двух докторов наук, тысяч обученных студентов. Он ни на кого никогда не давит. Его задача – разбудить инстинкт научного поиска и любопытства. Он приглашает к спору и анализу, больше спрашивает, чем говорит: черта истинного педагога и учителя – никогда не повышая голоса. Удачно сделанная работа оценивается одним словом – *welldone*, качественно написанная статья заслуживает *excellent*, если что-то не устраивает – *deficiency*, совсем плохо – *redo*.

Он прекрасный лектор, любимец студентов. Сам генетически и творчески одарен – более 300 научных работ, 15 патентов, десятки созданных лекарств, ряд отчетов по спецтематике подтверждают это. Юрий Степанович – образец искренности, открытости в общении, символ эмпатичности к коллегам, ученикам и студентам в сложном мире и в непростое время. Он, несомненно, входит в ряд одаренных исследователей и педагогов в самой динамичной и гуманной профессии – клинической фармакологии.

*Редакция журнала «Биомедицина»,  
сотрудники НЦБМТ ФМБА России, РостГМУ Минздрава России*





**ОГНЕВ Сергей Валерьевич**  
**(27.01.1969 – 02.02.2024)**

2 февраля 2024 года в возрасте 55 лет скоропостижно ушёл из жизни заместитель директора по административно-хозяйственной работе Научного центра биомедицинских технологий ФМБА России Сергей Валерьевич ОГНЕВ.

Сергей Валерьевич получил высшее образование в Московском медицинском стоматологическом институте и, сразу после выполнения воинского долга в Афганистане, начал свой профессиональный путь в 1989 году в должности лаборанта. В 2006 году окончил Московский институт экономики, менеджмента и права. В 2005 году пришёл в НЦБМТ. Почти 20 лет Сергей Валерьевич усердно и добросовестно выполнял задачи, без которых невозможен ни один научный процесс, – обеспечивал бесперебойную работу инженерных систем, курировал ремонт, строительство и ввод в эксплуатацию корпусов и филиалов нашего Центра.

Чёткость, компетентность и оперативность в принятии решений заслуженно снискали С.В. Огневу уважение среди подчинённых, коллег, сотрудников подрядных организаций и благодарности от ведомственных управлений ФМБА России. Серьёзно и ответственно подходя к своей непростой работе, Сергей Валерьевич всегда оставался вежливым, обходительным, жизнерадостным и душевным человеком. Для нас потеря Сергея Валерьевича – это утрата единомышленника и друга.

Коллектив Научного центра биомедицинских технологий ФМБА России скорбит и выражает глубочайшие соболезнования семье и близким Сергея Валерьевича. Светлая память!

# Лабораторкорм

*Более десяти лет коллектив нашей организации обеспечивает высококачественным **комбикормом для лабораторных животных** научные медицинские и учебные учреждения России.*

## *Реализуем:*

- ✓ Оборудование для вивариев (клетки-стеллажи и др.);
- ✓ Подстилочный материал из древесной стружки;
- ✓ Зерно: пшеница, овес, ячмень,
- ✓ Премиксы.

**НАШИ КОРМА**  
полнорационные,  
сбалансированные по  
аминокислотному составу,  
минералам и витаминам



**Доставка в любой регион России**

Наш адрес: Москва, 2-й Вязовский проезд, д. 16, стр. 10

ООО «Лабораторкорм»

Телефоны: (495) 972-99-72, 972-16-87, 220-01-23

[www.laboratorkorm.ru](http://www.laboratorkorm.ru)



## Уважаемые коллеги!

Приглашаем Вас принять участие в юбилейной **XX ежегодной научно-практической конференции «Биомедицина и биомоделирование»**, которая будет проводиться **22–23 мая 2024 г.** в Научном центре биомедицинских технологий ФМБА России по адресу: Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, владение 1; тел.: (495) 587-20-55; e-mail: [alimkina@scbmt.ru](mailto:alimkina@scbmt.ru), [oga@scbmt.ru](mailto:oga@scbmt.ru)

### Секции Конференции:

- Биотехнологии в медицине;
- Методы и технологии в биомедицинских исследованиях;
- Доклинические исследования в биомедицине;
- Релевантное и альтернативное биомоделирование;
- Трансгеноз и генномодифицированные животные.

В рамках конференции предусматривается проведение секций молодых ученых и студентов.

Участие в конференции предполагается в двух форматах: традиционном и заочном. Лучшие из работ будут опубликованы в журнале «Биомедицина» <https://journal.scbmt.ru/jour/index>

Время для доклада на пленарном заседании: 20 мин, на секциях – 10 мин. Возможно представление стендовых докладов.

Участие в конференции бесплатное, расходы на проезд и проживание – за счет командирующих организаций.

Материалы на конференцию предоставляются **до 15 апреля 2024 г.** в виде кратких сообщений, оформленных в соответствии с правилами для авторов, опубликованными на сайте журнала «Биомедицина»

<https://journal.scbmt.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>, с указанием фамилии, имени, отчества (полностью), учреждения и названия доклада.