

ISSN 1606-8181 (Print)  
ISSN 2070-5670 (Online)

<https://journals.eco-vector.com/1606-8181>

**ПСИХО** **Ф** **АРМАКОЛОГИЯ**  
**И БИОЛОГИЧЕСКАЯ** **Н** **АРКОЛОГИЯ**

НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

**PSYCHO** **P** **HARMACOLOGY**  
**AND BIOLOGICAL** **N** **ARCOLOGY**



**ТОМ 15**  
**VOLUME 15**

**ВЫПУСК 2**  
**ISSUE 2**

**2024**

## FOUNDERS AND PUBLISHER

Eco-Vector

Address:

3A Aptekarskiy Lane, office 1N,  
Saint Petersburg, 191181, Russia

E-mail: [info@eco-vector.com](mailto:info@eco-vector.com)

WEB: <https://eco-vector.com>

## EDITORIAL

Address:

3A Aptekarskiy Lane, office 1N,  
Saint Petersburg, 191181, Russia

E-mail: [psypharm@eco-vector.com](mailto:psypharm@eco-vector.com)

<https://journals.eco-vector.com/1606-8181>

**The journal was founded  
in Saint Petersburg in 2000**

**Published 4 times a year**

## INDEXING

[elibrary.ru](http://elibrary.ru)

Lens

OpenAlex

CrossRef

Dimensions

## ADVERTISE

Adv. department

Phone: +7 (965) 012-67-36

E-mail: [adv2@eco-vector.com](mailto:adv2@eco-vector.com)

Subscription to the printed version:

<https://journals.eco-vector.com/1606-8181>

# PSYCHOPHARMACOLOGY AND BIOLOGICAL NARCOTOLOGY

ISSN 1606-8181 (Print)

ISSN 2070-5670 (Online)

**Volume 15 | Issue 2 | 2024**

**QUARTERLY PEER-REVIEWED MEDICAL JOURNAL**

<https://journals.eco-vector.com/1606-8181>

## EDITOR-IN-CHIEF

*Petr D. Shabanov*, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor (Saint Petersburg, Russia),

ORCID: 0000-0003-1464-1127

## DEPUTY EDITORS-IN-CHIEF

*Aleksandr L. Urakov*, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor (Izhevsk, Russia),

ORCID: 0000-0002-9829-9463

## EXECUTIVE SECRETARY

*Inessa V. Karpova*, MD, Dr. Sci. (Biology) (Saint Petersburg, Russia),

ORCID: 0000-0001-8725-8095

## EDITORIAL BOARD

*Vadim A. Basharin*, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor (Saint Petersburg, Russia),

ORCID: 0000-0001-8548-6836

*Evgeny R. Bychkov*, MD, Dr. Sci. (Medicine) (Saint Petersburg, Russia),

ORCID: 0000-0002-8911-6805

*Tatiana A. Voronina*, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor (Moscow, Russia),

ORCID: 0000-0001-7065-469X

*Andrey V. Evseev*, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor (Smolensk, Russia),

ORCID: 0000-0001-7296-8502

*Alan V. Kaluev*, MD, Dr. Sci. (Medicine) (Sochi, Russia),

ORCID: 0000-0002-7525-1950

*Andrey A. Lebedev*, MD, Dr. Sci. (Biology), Professor (Saint Petersburg, Russia),

ORCID: 0000-0003-0297-0425

*Karen B. Ovanesov*, MD, Dr. Sci. (Medicine) (Saint Petersburg, Russia),

ORCID: 0000-0001-7325-8027

*Alexander A. Spasov*, Academician of RAS, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor (Volgograd, Russia),

ORCID: 0000-0002-7185-4826

## EDITORIAL COUNCIL

*Vyacheslav P. Ganapolsky*, MD, Dr. Sci. (Medicine) (Saint Petersburg, Russia)

*Eugenia V. Gurevich*, Professor (Nashville, USA),

ORCID: 0000-0002-0563-8295

*Ruslan I. Glushakov*, MD, Dr. Sci. (Medicine) (Saint Petersburg, Russia)

*Ashirali Z. Zurdinov*, Academician of the Kyrgyz National Academy of Sciences, MD, Dr. Sci. (Medicine),

Professor (Bishkek, Kyrgyzstan)

*Natalya P. Katunina*, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor (Bryansk, Russia)

*Vadim A. Kashuro*, MD, Dr. Sci. (Medicine) (Saint Petersburg, Russia)

*Alexander O. Kibitov*, MD, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

*Olga V. Levchenkova*, MD, Dr. Sci. (Medicine) (Smolensk, Russia)

*Valery G. Makarov*, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor (Saint Petersburg, Russia)

*Evgeny V. Mokrenko*, MD, Dr. Sci. (Medicine) (Irkutsk, Russia)

*Varery P. Pavlenko*, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor (Aktobe, Kazakhstan)

*Charles Nemeroff*, Professor (Miami, Florida, USA)

*Roman O. Roik*, MD, Dr. Sci. (Medicine) (Moscow, Russia)

*Pavel V. Rodichkin*, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor (Saint Petersburg, Russia)

*Andrey S. Simbirtsev*, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, MD, Dr. Sci. (Me-

dicine), Professor (Saint Petersburg, Russia)

*Vagif Soultanov*, Professor. (Melbourne, Australia)

*Viktor I. Tikhanov*, MD, Dr. Sci. (Medicine) (Blagoveschensk, Russia)

*Ivan N. Tyurenkov*, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, MD, Dr. Sci. (Medicine),

Professor (Volgograd, Russia)

*Nikolay L. Shimanovsky*, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, MD, Dr. Sci. (Me-

dicine), Professor (Moscow, Russia)

*Yang Baofeng*, Professor. (Harbin, China)

*Islomuddin A. Yunusov*, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor (Dushanbe, Tajikistan)

The editors are not responsible for the content of advertising materials. The point of view of the authors may not coincide with the opinion of the editors. Only articles prepared in accordance with the guidelines are accepted for publication. By sending the article to the editor, the authors accept the terms of the public offer agreement. The guidelines for authors and the public offer agreement can be found on the website: <https://journals.eco-vector.com/1606-8181>. Permissions to reproduce material must be obtained from the publisher and retained in order to confirm the legality of using reproduced materials

16+

© Eco-Vector, 2024



## УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ

000 «Эко-Вектор»

Адрес: 191181, Санкт-Петербург,  
Аптекарский переулок, д. 3, литера А,  
помещение 1Н

E-mail: [info@eco-vector.com](mailto:info@eco-vector.com)

WEB: <https://eco-vector.com>

# ПСИХОФАРМАКОЛОГИЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ НАРКОЛОГИЯ

ISSN 1606-8181 (Print)  
ISSN 2070-5670 (Online)

Том 15 | Выпуск 2 | 2024

НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

<https://journals.eco-vector.com/1606-8181>

## РЕДАКЦИЯ

Адрес: Россия, 191181, Санкт-Петербург,  
Аптекарский переулок, д. 3, литера А,  
помещение 1Н  
тел.: +7(812)648-83-67,  
факс: +7(812)312-45-72  
E-mail: [psypharm@eco-vector.com](mailto:psypharm@eco-vector.com)  
<https://journals.eco-vector.com/1606-8181>

Журнал основан в 2000 году  
в Санкт-Петербурге

Выходит ежеквартально

## ИНДЕКСАЦИЯ

[elibrary.ru](http://elibrary.ru)

Lens

OpenAlex

CrossRef

Dimensions

## РЕКЛАМА

Отдел рекламы

Тел.: +7 (965) 012-67-36

E-mail: [adv2@eco-vector.com](mailto:adv2@eco-vector.com)

Подписка на печатную версию журнала:  
Объединенный каталог «Пресса России»  
<https://www.pressa-ru.ru>. Подписной индекс  
на полугодие — **85777**, на год — **85778**.  
Подписка на электронную версию журнала:  
<https://journals.eco-vector.com>; [eLibrary.ru](http://elibrary.ru)

Выпуски журнала размещены на сайте:  
<https://journals.eco-vector.com/1606-8181>

Оригинал-макет изготовлен 000 «Эко-Вектор».

Выпускающий редактор: *Н.Н. Репьева*

Корректор: *И.В. Смирнова*

Верстка: *А.Г. Хуторовская*

Формат 60 × 90<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Усл.-печ. л. 10,5.

Тираж 100 экз. Цена свободная

Отпечатано в 000 «Типография Экспресс В2В».

191180, Санкт-Петербург, наб. реки Фонтанки, д. 104,

лит. А, пом. 3Н, оф. 1. Тел.: +7(812)646-33-77.

Заказ № 4-4681-1v. Подписано в печать 10.06.2024.

Дата выхода в свет 20.06.2024

16+

© 000 «Эко-Вектор», 2024

## Главный редактор

*Петр Дмитриевич Шабанов*, д-р мед. наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия),  
ORCID: 0000-0003-1464-1127

## Заместители главного редактора

*Александр Ливиевич Ураков*, д-р мед. наук, профессор (Ижевск, Россия),  
ORCID: 0000-0002-9829-9463

## Ответственный секретарь

*Инесса Владимировна Карпова*, д-р биол. наук (Санкт-Петербург, Россия),  
ORCID: 0000-0001-8725-8095

## Редакционная коллегия

*Вадим Александрович Башарин*, д-р мед. наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия),  
ORCID: 0000-0001-8548-6836

*Евгений Рудольфович Бычков*, д-р мед. наук (Санкт-Петербург, Россия),  
ORCID: 0000-0002-8911-6805

*Татьяна Александровна Воронина*, д-р мед. наук, профессор (Москва, Россия),  
ORCID: 0000-0001-7065-469X

*Андрей Викторович Евсеев*, д-р мед. наук, профессор (Смоленск, Россия),  
ORCID: 0000-0001-7296-8502

*Алан Валерьевич Калуев*, д-р мед. наук, профессор РАН (Сочи, Россия),  
ORCID: 0000-0002-7525-1950

*Андрей Андреевич Лебедев*, д-р биол. наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия),  
ORCID: 0000-0003-0297-0425

*Карэн Борисович Ованесов*, д-р мед. наук (Санкт-Петербург, Россия),  
ORCID: 0000-0001-7325-8027

*Александр Алексеевич Спасов*, академик РАН, д-р мед. наук, профессор (Волгоград, Россия),  
ORCID: 0000-0002-7185-4826

## Международный редакционный совет

*Вячеслав Павлович Ганопольский*, д-р мед. наук (Санкт-Петербург, Россия),

*Eugenia V. Gurevich*, профессор (Nashville, USA),

ORCID: 0000-0002-0563-8295

*Руслан Иванович Глушаков*, д-р мед. наук (Санкт-Петербург, Россия)

*Аширли Зурдинович Зурдинов*, академик Киргизской НАН, д-р мед. наук, профессор (Бишкек, Киргизия)

*Наталья Павловна Катунина*, д-р мед. наук, профессор (Брянск, Россия)

*Вадим Анатольевич Кашуро*, д-р мед. наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия)

*Александр Олегович Кибитов*, д-р мед. наук (Москва, Россия)

*Ольга Викторовна Левченко*, д-р мед. наук (Смоленск, Россия)

*Валерий Геннадьевич Макаров*, д-р мед. наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия)

*Евгений Владимирович Мокренко*, д-р мед. наук (Иркутск, Россия)

*Валерий Павлович Павленко*, д-р мед. наук, профессор (Актобе, Казахстан)

*Charles Neteroff*, профессор (Miami, USA)

*Роман Олегович Роик*, д-р мед. наук (Москва, Россия)

*Павел Васильевич Родичкин*, д-р мед. наук, профессор (Санкт-Петербург)

*Андрей Семенович Симбирцев*, чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, профессор (Санкт-Петербург)

*Vagif S. Soultanov*, профессор (Melbourne, Australia)

*Виктор Иванович Тиханов*, д-р мед. наук (Благовещенск, Россия)

*Иван Николаевич Тюренков*, чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, профессор (Волгоград)

*Николай Львович Шимановский*, чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, профессор (Москва)

*Vaofeng Yang*, профессор (Harbin, China)

*Исломуддин Айниддинович Юнусов*, д-р мед. наук, профессор (Душанбе, Таджикистан)

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов. Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции. К публикации принимаются только статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов. Направляя статью в редакцию, авторы принимают условия договора публичной оферты. С правилами для авторов и договором публичной оферты можно ознакомиться на сайте: <https://journals.eco-vector.com/1606-8181>. Полное или частичное воспроизведение материалов, опубликованных в журнале, допускается только с разрешения издателя — издательства «Эко-Вектор»

# CONTENTS

---

## REVIEW

- Ethyl alcohol: Influence on the dynamics of blood supply of skin and other soft tissues during their sudden cooling . . . . 95  
*A.L. Urakov*

## PSYCHONEUROPHARMACOLOGY

-  Effects of unilateral cortical inactivation on monoamine metabolism in symmetrical forebrain areas of white outbred mice . . . . . 107  
*I.V. Karpova, V.V. Mikheev, E.R. Bychkov, P.D. Shabanov*
- Morphological changes in the hippocampus of the rat brain in ischemia and in conditions of combined preconditioning 117  
*V.E. Novikov, O.S. Levchenkova, Yu.S. Korneva*
- Sedative effect of U-49900 (3,4-dichloro-N-(2-(diethylamino)cyclohexyl)-N-methyl-benzamide) in adult Zebrafish . . . . . 127  
*T.O. Kolesnikova, V.A. Shevyrin, S.L. Khatsko, A.V. Kalueff*
-  Hypothermic effect of antihypoxant 2-aminobenzotiazole . . . . . 135  
*D.I. Klimenko, E.O. Demidova, I.V. Karpova, V.V. Marysheva, N.R. Evdokimova, N.A. Shchukina, V.P. Ganapolsky, P.D. Shabanov*

## BIOLOGICAL NARCOLOGY

-  Reinforcing systems of the brain and quantification of their work . . . . . 141  
*P.D. Shabanov, Ya.B. Likhtman, A.A. Lebedev*
-  Correction of compulsive overeating in rats after maternal deprivation in early age using a new antagonist of OX1 receptors . . . . . 155  
*A.A. Lebedev, S.S. Pyurveev, N.D. Nadbitova, Eu.R. Bychkov, V.V. Lukashkova, V.A. Lebedev, P.D. Shabanov*

## CLINICAL NARCOLOGY

- Objective predictors for delirium tremens based on physiological and metabolic parameters . . . . . 163  
*S.I. Utkin, O.J. Buzik, A.A. Burtsev*

## ANNIVERSARIES

- Talented biochemical pharmacologist Professor Irina V. Zarubina . . . . . 173

# СОДЕРЖАНИЕ

---

## НАУЧНЫЕ ОБЗОРЫ

- Спирт этиловый: влияние на динамику кровоснабжения кожи и других мягких тканей при их внезапном охлаждении ..... 95  
*А.Л. Ураков*

## ПСИХОНЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

-  Влияние унилатеральной корковой инактивации на обмен моноаминов в симметричных структурах переднего мозга белых беспородных мышей ..... 107  
*И.В. Карпова, В.В. Михеев, Е.Р. Бычков, П.Д. Шабанов*
- Морфологические изменения в гиппокампе головного мозга крыс при ишемии и в условиях комбинированного прекондиционирования ..... 117  
*В.Е. Новиков, О.С. Левченкова, Ю.С. Корнева*
- Седативный эффект U-49900 (3,4-дихлор-N-(2-(диэтиламино)циклогексил)-N-метил-бензамида) на взрослых рыбах зебрании ..... 127  
*Т.О. Колесникова, В.А. Шевырин, С.Л. Хацко, А.В. Калусев*
-  Гипотермический эффект антигипоксанта 2-аминобензотиазола ..... 135  
*Д.И. Клименко, Е.О. Демидова, И.В. Карпова, В.В. Марышева, Н.Р. Евдокимова, Н.А. Щукина, В.П. Ганопольский, П.Д. Шабанов*

## БИОЛОГИЧЕСКАЯ НАРКОЛОГИЯ

-  Подкрепляющие системы мозга и количественная оценка их работы ..... 141  
*П.Д. Шабанов, Я.Б. Лихтман, А.А. Лебедев*
-  Коррекция компульсивного переедания у крыс, переживших материнскую депривацию в раннем возрасте, помощью нового антагониста OX1-рецепторов ..... 155  
*А.А. Лебедев, С.С. Пюрвеев, Н.Д. Надбитова, Е.Р. Бычков, В.В. Лукашкова, В.А. Лебедев, П.Д. Шабанов*

## КЛИНИЧЕСКАЯ НАРКОЛОГИЯ

- Результаты проспективного обсервационного исследования лабораторных и клинических показателей у пациентов с синдромом отмены алкоголя ..... 163  
*С.И. Уткин, О.Ж. Бузик, А.А. Бурцев*

## ЮБИЛЕИ

- Талантливый биохимический фармаколог профессор Ирина Викторовна Зарубина ..... 173

УДК 615.211:615.451.13:612.1:612.79:611.779:616-001.18

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn625460>

# Спирт этиловый: влияние на динамику кровоснабжения кожи и других мягких тканей при их внезапном охлаждении

А.Л. Ураков

Ижевская государственная медицинская академия, Ижевск, Россия

## АННОТАЦИЯ

В норме (то есть у трезвых людей при отсутствии спирта этилового в крови) внезапное локальное охлаждение кожи и мягких тканей различных частей тела с +37 до +18 °С и ниже (но не ниже 0 °С) вызывает в охлажденных тканях двухфазное изменение тонуса кровеносных сосудов, наполненности их кровью, интенсивности кровоснабжения и чувства болезненности. При этом с первых секунд охлаждения тонус кровеносных сосудов мышечного типа начинает увеличиваться, наполненность их кровью — уменьшаться, цвет кожи светлеет и вскоре в охлажденном участке тела возникает чувство острой болезненности. Через несколько десятков секунд охлаждения спазм кровеносных сосудов достигает максимальных значений, наполненность их кровью снижается до минимума, кожа белеет, болезненность становится максимальной. Эти изменения сохраняются на пике своих значений несколько минут, после чего начинают исчезать, несмотря на продолжающуюся гипотермию. Однако через 7–10 мин охлаждения в зоне гипотермии неизбежно развивается гиперемия, вследствие чего исчезает болезненность, а кожа краснеет. В норме при внезапном охлаждении тканей происходит раздражение температурных рецепторов, расположенных в них. Возбуждение температурных рецепторов вызывает рефлекторный спазм кровеносных сосудов, который имеет адаптационное значение, поскольку выработан эволюционно для температурного гомеостаза теплокровного организма. Острая болезненность, сопровождающая холодовой спазм кровеносных сосудов, возникает из-за механического сдавливания болевых рецепторов, расположенных под мышечным слоем в стенке кровеносных сосудов. Наличие спирта этилового в крови (алкогольное опьянение) кардинально изменяет динамику кровоснабжения тканей при внезапном охлаждении: кровеносные сосуды расширяются и переполняются кровью без первоначальной фазы спазма и появления чувства болезненности. При этом гиперемия сохраняется не только на протяжении всего периода охлаждения, но и после него. Иными словами, алкогольное опьянение проявляется немедленным развитием гиперемии и покраснением кожи в охлажденном участке тела без первоначального спазма кровеносных сосудов, возникновением чувства болезненности и бледности кожи в участке охлаждения.

**Ключевые слова:** алкоголь; опьянение; холод; обморожение; кровеносные сосуды; температурный гомеостаз; адаптация; диагностика.

## Как цитировать

Ураков А.Л. Спирт этиловый: влияние на динамику кровоснабжения кожи и других мягких тканей при их внезапном охлаждении // Психофармакология и биологическая наркология. 2024. Т. 15, № 2. С. 95–106. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn625460>

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn625460>

# Ethyl alcohol: Influence on the dynamics of blood supply of skin and other soft tissues during their sudden cooling

Aleksandr L. Urakov

Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russia

## ABSTRACT

In the norm (i.e., the absence of ethyl alcohol in blood in sober people), sudden local cooling of the skin and soft tissues of different parts of the body from +37°C to +18°C and below (but not below 0°C) causes two-phase changes in blood vessels tone, blood filling, and intensity of blood supply and pain in the cooled tissues. In the first seconds of cooling, the tone of the muscular blood vessels begins to increase and their blood filling decreases, the skin color lightens, and in the cooled area of the body, acute soreness develops. After a few tens of seconds of cooling, spasm in the blood vessels reaches maximum level and their filling with blood decreases to a minimum, the skin turns white, and the soreness becomes severe. These changes persist at their peak for a few minutes, after which they begin to disappear, despite the persisting hypothermia. However, after 10–15 minutes of cooling, hyperemia develops in the hypothermia zone; as a result, the soreness disappears and the skin reddens. Notably, in the norm, sudden cooling of tissues causes irritation of the temperature receptors found in them. The resulting excitation of temperature receptors causes reflex spasm of blood vessels, which has an adaptive value, as it developed for temperature homeostasis of warm-blooded organisms. Acute pain accompanying cold spasm of blood vessels has been found to be due to mechanical squeezing of pain receptors located under the muscular layer in the wall of blood vessels. Conversely, the presence of ethyl alcohol in the blood or, in severe cases, alcohol intoxication changes the dynamics of blood supply in tissues at their sudden cooling: during cooling, blood vessels expand and overflow with blood without the initial phase of spasm and occurrence of pain. Moreover, hyperemia persists throughout and after the cooling period. That is, alcohol intoxication is manifested by the immediate development of hyperemia and skin redness in the cooled area of the body without the initial spasm of blood vessels and appearance of soreness and pallor of the skin in the area of cooling.

**Keywords:** alcohol; intoxication; cold, frostbite; blood vessels; temperature homeostasis; adaptation; diagnosis.

## To cite this article

Uraikov AL. Ethyl alcohol: Influence on the dynamics of blood supply of skin and other soft tissues during their sudden cooling. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2024;15(2):95–106. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn625460>

Received: 04.01.2024

Accepted: 08.02.2024

Published online: 12.04.2024

## ВВЕДЕНИЕ

Реакция кровеносных сосудов различных органов и частей тела человека и теплокровных животных на локальное охлаждение в норме и под действием лекарств остается мало изученной областью фармакологии [1–6]. В частности, исследователи до сих пор недостаточно внимания уделяют динамике рефлекторной реакции кровеносных сосудов кожи на локальное охлаждение в норме и под действием психотропных, нейротропных лекарственных препаратов, спирта этилового, анестетиков и наркотиков [7–9]. Несмотря на это, локальные температурно-лекарственные комбинации имеют клиническое значение [10, 11]. Дело в том, что локальная температура частей тела изменяется как естественным образом при болезнях, сопровождаемых, например, воспалением, так и искусственным образом, например, при действии на поверхность тела холодной воды, снега, морозного воздуха, а также в результате медицинских процедур, включающих локальное применение пузыря со льдом или грелки с горячей водой [12–15]. Кроме этого, регистрация динамики периферического кровоснабжения и локальной температуры определенных частей тела может иметь диагностическое значение, в частности, для оценки гипоксии и ишемии [6]. Кроме этого, локальное кровоснабжение и локальная температура — важные факторы взаимодействия многих лекарственных препаратов при их местном применении [10, 16]. Выяснено, что локальная гипертермия усиливает местное действие щелочных растворов перекиси водорода на густую мокроту, слизь, гной, сгустки крови и меконий, что обеспечивает лидерство этой группе лекарств среди известных пиолитиков, муколитиков, гемолитиков и отбеливателей [17–19]. В свою очередь, локальная гипотермия усиливает местное действие антигипоксантов и противовоспалительных лекарственных препаратов [20–23].

В то же время в норме локальная гипотермия может разнонаправленно влиять на кровоснабжение охлаждаемого участка тела в первые несколько минут острого охлаждения [24, 25]. Однако варианты первоначальной динамики кровоснабжения кожи при остром охлаждении в норме и под влиянием лекарственных препаратов не систематизированы. Тем не менее установлено, что в норме первоначальная динамика кровоснабжения кожи при действии локального охлаждения носит стадийный характер и может отражать механизмы защиты организма человека от переохлаждения и гипоксии, с одной стороны, а также служить фактором локальных обморожений — с другой [25–36]. При этом алкогольные напитки нередко оказываются в организме людей, подвергнутых экстремальным природным воздействиям в морозную погоду и терапевтической гипотермии. Именно поэтому выяснение особенностей влияния спирта этилового на динамику кровоснабжения кожи людей в первые минуты их

локального охлаждения может иметь большое терапевтическое и диагностическое значение.

## КРАТКАЯ ИСТОРИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ГИПОТЕРМИИ

Первые упоминания о лечебной роли гипотермии можно найти в литературе, восходящей к древним египтянам. Первое описание об использовании охлаждения человека для замедления биологических процессов и наступления смерти в военной медицине сделал Гиппократ около 450 г. до н. э., который советовал укладывать раненых в снег для замедления смерти [25]. В начале 1800-х годов во время вторжения французской армии в Россию в зимний период военные хирурги заметили, что локальная гипотермия уменьшает болезненность и потерю крови при ранениях и кровотечениях, поэтому военные врачи французской армии применяли локальное охлаждение для ампутаций конечностей. В это же время французские военные хирурги наблюдали, как раненые солдаты, размещенные ближе к костру, умирали раньше, чем те, кто располагался на более холодных койках.

Клинический интерес к применению терапевтической гипотермии возник в начале XX в. с сообщением об успешном спасении утопленников, изъятых через несколько часов после утопления в холодной воде [37]. Опираясь на первые результаты использования терапевтической гипотермии в начале второй половины XX в. российский ученый Владимир Неговский заложил основы реаниматологии [38]. В это же время Евгений Мешалкин начал успешно применять легкую гипотермию для предотвращения гипоксического повреждения клеток головного мозга у детей при хирургических операциях на сердце и магистральных сосудах [39]. Однако терапевтическая гипотермия привлекла серьезное внимание исследователей во всем мире только в 2002 г. после публикации статей в *New England Journal of Medicine*, которые показали значительное улучшение краткосрочной и долгосрочной выживаемости, а также неврологических исходов с помощью гипотермии [40–42].

Сегодня вместо термина «терапевтическая гипотермия» используют термин «целенаправленное управление температурой» (ЦУТ) — *targeted temperature management* (TTM) (in English) [25]. Считается, что целенаправленное управление температурой может предотвратить лихорадку, помочь поддержанию нормотермии (или вызвать гипотермию), поэтому применение локальной аппаратной контролируемой гипотермии при различных патологических состояниях человека представляет актуальное направление в медицине. Температурный фактор тесно связан с микроциркуляцией и периферическим кровообращением. Однако до сих пор отсутствуют четкие представления о динамике тонуса кровеносных сосудов при их спазме и дилатации в период острой гипотермии [43].

## ИСТОРИЧЕСКАЯ СПРАВКА О ТЕМПЕРАТУРНОЙ ФАРМАКОЛОГИИ

Температурная фармакология как самостоятельное направление в экспериментальной и клинической фармакологии зародилась в конце XX в. благодаря интенсивным исследованиям проблемы ишемии и инфаркта миокарда и других тканей. Первые сообщения о предотвращении некроза ишемизированных тканей с помощью их локального охлаждения появились в Российской Федерации [24, 44, 45]. С одной стороны, охлаждение консервирует ткани и ингибирует их метаболизм (особенно сильно — аэробный обмен) и этим уменьшает потребность тканей в кислороде, а с другой стороны, угнетает свертывающую систему крови, предотвращает закупорку кровеносных сосудов тромбами и способствует развитию холодовой гиперемии, чем улучшает доставку артериальной крови в зону ишемии [1, 46].

Формирование температурной фармакологии началось в Ижевске, где были изучены особенности местного действия локальной гипотермии, лекарств и их комбинаций на митохондрии, кровь, кровеносные сосуды, миокард, кишечник и конечности экспериментальных животных и пациентов в норме, а также при гипоксии и ишемии [47, 48]. Основные положения температурной фармакологии были сформулированы к 1988 г. [1, 16]. В общем виде они сводятся к тому, что при местном применении лекарств температура является важнейшим фактором локального взаимодействия. Было обнаружено, что локальная гипотермия усиливает фармакологическую активность тех лекарственных препаратов, механизм действия которых обусловлен угнетением метаболизма и функции ткани. Значение этой закономерности было показано на примере усиления холодом (при локальном охлаждении с +37 до +18 °С) фармакологической активности антикоагулянтов, антигипоксантов, спазмолитиков, болеутоляющих, местных анестетиков, противовоспалительных, консервантов и некоторых других средств. Вместе с тем локальная гипертермия усиливает фармакологическую активность тех лекарственных препаратов, механизм действия которых обусловлен стимуляцией метаболизма и функций ткани. Эта закономерность продемонстрирована на примере усиления теплом (при локальном нагревании с +37 до +42 °С) фармакологической активности хлорида калия (за счет катиона  $K^+$  — модулятора потенциала действия для гладких мышц), коагулянтов, антисептиков, пиолитиков, муколитиков, гемолитиков, химиотерапевтических, спастических, раздражающих и отбеливающих средств [1, 17–19, 24, 49].

Полученные результаты позволили предположить, что закон Аррениуса может стать вектором развития фармакологии в ближайшем будущем, поскольку температурная фармакология может стать новым научным и практическим направлением, в котором местное действие лекарственных средств будут рассматривать с учетом

определенных значений температуры тканей. Роль катализатора в развитии температурной фармакологии может сыграть инфракрасная визуализация с использованием тепловизора [50–52]. Было высказано предложение о возможности усиления местного действия лекарств с помощью локального охлаждения либо локального нагревания области взаимодействия при местном применении лекарств. В связи с этим местное применение лекарственных средств в сопровождении локальной гипотермии или гипертермии может повысить эффективность и безопасность лечения многих заболеваний [53]. Сегодня нет сомнений в том, что локальная температура представляет важнейший фактор местного взаимодействия лекарств, так как механизм действия лекарств проявляется через изменение интенсивности метаболизма и функции органов и тканей, а изменение интенсивности химических, биохимических, физико-химических процессов и функциональной активности тканей человека находится в прямой зависимости от величины температуры (правда только в пределах сохранения жизнеспособности, то есть в безопасном диапазоне значений) [54, 55].

## ДИНАМИКА ТОНУСА КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ, НАПОЛНЕННОСТИ ИХ КРОВЬЮ И ЧУВСТВА БОЛЕЗНЕННОСТИ ПРИ ОСТРОМ ОХЛАЖДЕНИИ У ЛЮДЕЙ И ЖИВОТНЫХ В НОРМЕ

Давно известно, что при внезапном локальном охлаждении теплых рук и ног до температуры 0 °С в них появляется чувство боли у большинства людей, находящихся в сознании [1]. Чувство боли сочетается со спазмом кровеносных сосудов, развивающимся в охлаждаемой части тела. При этом охлаждение вызывает спазм в кровеносных сосудах не только в коже, подкожно-жировой клетчатке открытых частей тела (лица, рук и ног), но и в гладкомышечных органах, таких, например, как кишка и матка при их локальном охлаждении [56–57]. В опытах с изолированными отрезками кровеносных сосудов и кишок животных в условиях *in vitro* установлено, что при внезапном охлаждении происходит спазм гладкомышечных элементов в сосудистой стенке и кишке и этот спазм развивается рефлекторно в ответ на раздражение температурных рецепторов, локализованных в их стенках [1, 16, 24, 47]. Сила и продолжительность тонического сокращения гладкомышечных миоцитов сосудистой стенки и кишки зависят от интенсивности аэробного метаболизма, обеспечивающего их энергией. Поскольку охлаждение угнетает аэробный обмен и выработку энергии, резервы АТФ в условиях холодового спазма гладкой мускулатуры обычно исчезают через 1–7 мин после начала охлаждения. Именно так развивается холодовая дилатация кровеносных сосудов и кишок. Если к этому моменту сосуды не затвердевают

от экстремального охлаждения и остаются эластичными, они могут быть расширены под давлением крови, находящейся внутри сосудов и движущейся под давлением, создаваемым сердцем, как насосом. Поэтому в этот период охлаждения сосуды могут наполниться кровью, что проявляется холодовой гиперемией. Этим объясняется известное явление — покраснение кожи на морозе.

Вслед за экспериментальными исследованиями были проведены клинические испытания. Результаты клинических исследований показали, что в норме при охлаждении теплых частей тела здоровых людей с +30... +35 до +20... +18 °С и ниже (вплоть до 0 °С) уже через несколько секунд увеличивается тонус кровеносных сосудов кожи, подкожно-жировой клетчатки, скелетных мышц и других тканей [56]. Это сопровождается появлением чувства боли в охлажденном участке и уменьшением доставки к нему теплой артериальной крови [57, 58]. Болезненность, возникающую в первый период охлаждения, вызывает спазм гладкомышечных миоцитов, который приводит к механическому сдавливанию болевых рецепторов, размещенных под слоем гладкомышечных клеток [16, 24, 47].

Однако даже максимальный спазм кровеносных сосудов, развивающийся при внезапной гипотермии, не ведет к ишемическому повреждению и некрозу охлажденных тканей, так как одновременно с обескровливанием в охлажденном участке тела угнетается обмен веществ и снижается потребность тканей в кислороде [1, 16, 47]. В частности, в клинических условиях было показано, что локальное охлаждение конечностей предотвращает гангрену и улучшает прогноз реконструктивной хирургической операции при их острой и хронической ишемии [59–63].

В связи с терапевтическим влиянием локальной гипотермии локальное охлаждение было предложено для продления периода безопасной терапевтической ишемии, созданной искусственно для прекращения кровоснабжения раневой поверхности паренхиматозных органов, в частности селезенки, с целью 100 % безопасного гемостаза [64, 65].

## ВЛИЯНИЕ СПИРТА ЭТИЛОВОГО НА ЦЕНТРАЛЬНОЕ И ПЕРИФЕРИЧЕСКОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ

Этанол применяют в качестве антисептика и общего обезболивающего с первых лет нашей эры. В настоящее время спирт этиловый включен в Список основных лекарственных средств Всемирной организации здравоохранения и является наиболее эффективным и безопасным лекарственным средством, необходимым для системы здравоохранения. В частности, спирт этиловый оказывает противовирусное действие, которое он проявляет

и в отношении возбудителя новой коронавирусной инфекции [66]. В то же время влияние спирта этилового на центральное и периферическое кровообращение не до конца изучено.

Считалось, что прием этилового спирта расширяет кровеносные сосуды в коже и в меньшей степени в других тканях [67–69]. По этой причине этанол был рекомендован для лечения заболеваний периферических сосудов и стенокардии [70]. Сообщалось, что этанол оказывает сосудорасширяющий эффект за счет прямого влияния на гладкомышечные клетки сосудов [71]. Однако механизм сосудорасширяющего действия этилового спирта не раскрыт до сих пор. Более того, получены доказательства, что спирт этиловый служит фактором риска гипертонической болезни и патологии сердечной мышцы [72]. Было также установлено, что острое воздействие этанола перед окклюзией коронарных артерий и последующей реперфузией не влияло на размер инфаркта миокарда в сердце собаки, находящейся под наркозом [73, 74].

Распространено мнение, что спирт этиловый является болеутоляющим и противошоковым лекарственным препаратом. В частности, при исследовании порога боли у людей отмечено, что внутривенный спирт этиловый производил анальгетический эффект, эквивалентный эффекту внутривенного морфина [75–77].

В то же время все исследования сосудорасширяющего и анальгетического действия этилового спирта многие годы проводили без учета локальной температуры, рефлекторной реакции периферических кровеносных сосудов на случайное охлаждение, адаптационных механизмов поддержания температурного гомеостаза, а также сосудистых механизмов адаптации к гипоксии. Только в начале XX в. при изучении влияния спирта этилового на динамику кровоснабжения тканей стали учитывать указанные факторы. Результаты исследований, полученные в условиях *in vitro* и *in vivo*, однозначно указывали на то, что спирт этиловый прямо влияет на динамику тонуса кровеносных сосудов при локальной умеренной и глубокой гипотермии (при локальном охлаждении тканей до +18... +20 и 0 °С) [56–58]. Было показано, что спирт этиловый, принятый внутрь в виде водки, уменьшает чувство боли и выраженность спазма кровеносных в ответ на локальное охлаждение [53, 54]. Сообщалось, что открытые кисти рук у мужчин, находящихся в состоянии алкогольного опьянения, ладони и пальцы рук имеют более высокую температуру, чем у них же, но в трезвом состоянии. После принудительного опускания рук на 2 мин в воду с тающим снегом локальная температура ладоней и пальцев рук у мужчин, находящихся в состоянии алкогольного опьянения, повышалась до нормальных значений в 2 раза быстрее, чем у этих же людей до приема водки. При этом у трезвых мужчин подушечки пальцев рук оставались более холодными, чем ладони, а у мужчин, находящихся в состоянии алкогольного опьянения, ладони оставались более холодными, чем подушечки пальцев рук.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В начале XXI в. достигнуты значительные успехи в целенаправленном управлении температурой различных участков тела пациентов при различных критических состояниях. В частности, с помощью искусственной гипотермии удается сохранить жизнеспособность различных биологических объектов благодаря более эффективному «холодовому» замедлению биологических часов и интенсивности метаболизма в сравнении с использованием лекарственных средств [55]. Именно поэтому локальная гипотермия является важнейшим фактором сохранения жизнеспособности биологических объектов в неблагоприятных условиях, включая гипоксию и ишемию. При этом в норме в самом начале локального охлаждения поверхности тела человека и теплокровных животных холод раздражает температурные рецепторы, возбуждение которых вызывает рефлекторное тоническое сокращение гладкомышечных клеток кровеносных сосудов. Возникает так называемый холодовой спазм кровеносных сосудов, который становится причиной ишемии и сопровождается появлением сильной болезненности из-за механического сдавливания (раздражения) болевых рецепторов сократившимися гладкомышечными клетками [1, 16, 47]. Такое действие холода на кровоснабжение и чувство боли часто нежелательно, так как может стать причиной обморожения тканей, угнетения их функциональной активности и/или отказа пострадавших от терапевтической гипотермии [78–81]. В то же время предварительный прием внутрь

спирта этилового (водки) полностью исключает развитие холодового спазма кровеносных сосудов, появления чувства болезненности и ишемии. Более того, внезапное локальное охлаждение, оказываемое на поверхность тела человека, находящегося в состоянии алкогольного опьянения, проявляется яркой гиперемией, которая способна препятствовать локальному охлаждению из-за максимальной доставки теплой артериальной крови.

Таким образом, исследование динамики периферического кровообращения и локальной температуры (с помощью тепловизора) ладоней и подушечек пальцев рук при локальном холодом воздействии может быть использовано как дополнительный функционально-диагностический тест на алкогольное опьянение.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Конфликт интересов.** Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Автор заявляет об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

## ADDITIONAL INFORMATION

**Competing interests.** The author declare that they have no competing interests.

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ураков А.Л. Рецепт на температуру // Наука и Жизнь. 1989. № 9. С. 38–42. EDN: YUDVMG
2. Minson C.T. Thermal provocation to evaluate microvascular reactivity in human skin // *J Appl Physiol*. 2010. Vol. 109, N. 4. P. 1239–1246. doi: 10.1152/jappphysiol.00414.2010
3. Brunt V.E., Minson C.T. Cutaneous thermal hyperemia: more than skin deep // *J Appl Physiol*. 2011. Vol. 111, N. 1. P. 5–7. doi: 10.1152/jappphysiol.00544.2011
4. Белавенцева А.В., Подолян Н.П., Волынский М.А., и др. Исследование реакции кровеносных сосудов на локальный нагрев методом визуализирующей фотоплетизмографии // Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики. 2023. Т. 23, № 1. С. 14–20. EDN: LJPLIG doi: 10.17586/2226-1494-2023-23-1-14-20
5. Urakov A.L., Urakova N.A. Thermography of the skin as a method of increasing local injection safety // *Thermology International*. 2013. Vol. 23, N. 2. P. 70–72.
6. Urakov A., Urakova N., Kasatkin A., et al. Dynamics of local temperature in the fingertips after the cuff occlusion test: Infrared diagnosis of adaptation reserves to hypoxia and assessment of survivability of victims at massive blood loss // *Rev Cardiovasc Med*. 2022. Vol. 23, N. 5. ID 174. doi: 10.31083/j.rcm2305174
7. Cuddy M.L.S. The effects of drugs on thermoregulation // *AACN Clin Issues*. 2004. Vol. 15, N. 2. P. 238–253. doi: 10.1097/00044067-200404000-00010
8. Coolbaugh C.L., Bush E.C., Galenti E.S., et al. An individualized, perception-based protocol to investigate human physiological responses to cooling // *Front Physiol*. 2018. Vol. 9. ID 195. doi: 10.3389/fphys.2018.00195
9. Kortelainen M.-L. Drugs and alcohol in hypothermia and hyperthermia related deaths: a retrospective study // *J Forensic Sci*. 1987. Vol. 32, N. 6. P. 1704–1712. doi: 10.1520/JFS11228J
10. Ивонина Е.В., Сойхер Е.М., Копылов М.В. Температура как фактор взаимодействия при местном виде действия лекарств // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 2-1. С. 133. EDN: UHWYPV
11. Urakov A.L., Kasatkin A.A., Urakova N.A., Urakova T.V. Cold sodium chloride solution 0.9% and infrared thermography can be an alternative to radiopaque contrast agents in phlebography // *J Pharmacol Pharmacother*. 2016. Vol. 7, N. 3. P. 138–139. doi: 10.4103/0976-500X.189675
12. Urakov A.L., Urakova N.A., Reshetnikov A.P., et al. Dynamics of the local temperature of skin, inner surface of cheeks and buccal gingiva after the application of an standard instant ice pack to

- patient's face // *Thermology international*. 2018. Vol. 28, N. 2. P. 99–100.
13. Jung A., Wiesek B., Ring E.F.J., et al. Standardisation of the technique of thermal imaging in medicine: issues for the creation of a reference atlas of normal thermograms // *Thermology International*. 2004. Vol. 14, N. 2. P. 77–81.
14. Urakov A.L., Ammer K., Urakova N.A., et al. Infrared thermography can discriminate the cause of skin discolourations // *Thermology International*. 2015. Vol. 25, N. 4. P. 209–215. doi: 10.21611/qirt.2016.140
15. Urakov A., Urakova N. Finger temperature when shooting from a rifle in the cold: thermal recommendations // *Sport Sci*. 2020. Vol. 13, N. 1. P. 135–143.
16. Ураков А.Л. Рецепт на температуру. Ижевск: Удмуртия, 1988. 80 с.
17. Urakov A., Urakova N., Fisher E., et al. Antiseptic pyolytics and warming wet compresses improve the prospect of healing chronic wounds // *Explor Med*. 2023. Vol. 4. P. 747–754. doi: 10.37349/emed.2023.00175
18. Gurevich K., Urakov A., Fisher E., Shubina Z. Alkaline hydrogen peroxide solution is an expectorant, pyolytic, mucolytic, hemolytic, and bleaching drug for treating purulent diseases, hematomas and bruising // *J Pharm Res Int*. 2022. Vol. 34, N. 30B. P. 13–20. doi: 10.9734/jpri/2022/v34i30B36073
19. Фишер Е.Л., Ураков А.Л., Самородов А.В., и др. Щелочные растворы перекиси водорода с отхаркивающим, пиолитическим, муколитическим, гемолитическим, кислород-освобождающим и обесцвечивающим действием // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2023. Т. 21, № 2. С. 135–150. EDN: UDPAZJ doi: 10.17816/RCF492316
20. Сосин Д.В., Евсеев А.В., Парфенов Э.А., и др. Гипотермический эффект антигипоксантов пQ1983 и пQ2170 // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2012. Т. 10, № 4. С. 78–82. EDN: QZKXWD doi: 10.17816/RCF10478-82
21. Esclamado R.M., Damiano G.A., Cummings C.W. Effect of local hypothermia on early wound repair // *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1990. Vol. 116, N. 7. P. 803–808. doi: 10.1001/archotol.1990.01870070051009
22. Derwin R., Patton D., Avsar P., et al. The impact of topical agents and dressing on pH and temperature on wound healing: A systematic, narrative review // *Int Wound J*. 2022. Vol. 19, N. 6. P. 1397–1408. doi: 10.1111/iwj.13733
23. Ураков А.Л. Инфракрасный мониторинг динамики локальной температуры как симптома адаптации к гипоксии и эффективности антигипоксических средств // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2019. Т. 17, № 1. С. 79–86. EDN: UIYGJA doi: 10.17816/RCF17179-86
24. Ураков А.Л. Холод в защиту сердца // *Успехи современного естествознания*. 2013. № 11. С. 32–36. EDN: RCHMBP
25. Omairi A.M., Pandey S. Targeted temperature management. In: *StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*, 2023.
26. Urakov A., Urakova N., Kasatkin A., Dementyev V. Temperature and blood rheology in fingertips as signs of adaptation to acute hypoxia // *JOP Conf Series*. 2017. Vol. 790. ID 012034. doi: 10.1088/1742-6596/790/1/012034
27. Urakov A.L., Kasatkin A.A., Ammer K., Gurevich K.G. The dynamics of fingertip temperature during voluntary breath holding and its relationship to transcutaneous oximetry // *Thermology international*. 2019. Vol. 29, N. 2. P. 65–66.
28. Urakov A.L., Urakova T.V., Kasatkin A.A. Infrared thermography to assess the blood donors adaptation to blood loss // *Thermology international*. 2016. Vol. 26, N. 2. ID S13.
29. Urakova N.A., Urakov A.L. Thermal imaging for increasing the diagnostic accuracy in fetal hypoxia: Concept and practice suggestions. In: Ng E.Y.K., Etehadtavakol M., editors. *Application of infrared to biomedical sciences, series in bioengineering*. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2017. P. 277–289. doi: 10.1007/978-981-10-3147-2\_16
30. Urakov A.L., Kasatkin A.A., Urakova N.A. Changes the local temperature of venous blood and venous vessel walls as the basis for visualization of superficial veins in the infrared venography, using temperature-induced tissue contrast. In: Ng E.Y.K., Etehadtavakol M., editors. *Application of infrared to biomedical sciences, series in bioengineering*. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2017. P. 429–436. doi: 10.1007/978-981-10-3147-224
31. Urakov A.L., Kasatkin A.A., Urakova N.A., Ammer K. Infrared thermographic investigation of fingers and palms during and after application of cuff occlusion test in patients with hemorrhagic shock // *Thermology International*. 2014. Vol. 24, N. 1. P. 5–10.
32. Urakov A., Urakova N. Thermal imaging improves the accuracy of estimation of human resistance to sudden hypoxia. In: Tavares J.M.R.S., Natal Jorge R.M., editors. *Lecture Notes in Computational Vision and Biomechanics. ViPIMAGE 2017. Proceedings of the VI ECCOMAS thematic conference on computational vision and medical image processing*. Porto, Portugal, Oct 18–20, 2017. Vol. 27. Kluwer Academic Publishers, Springer International Publishing AG 2018. 2018. P. 957–961. doi: 10.1007/978-3-319-68195-5\_104
33. Kasatkin A.A., Urakov A.L. Correlation between arterial blood gases indices and the temperature of fingers after cuff occlusion test in patients with acute blood loss // *Thermology international*. 2018. Vol. 28, N. 2. ID 123.
34. Urakov A.L., Dement'ev V.B., Gadelshina A.A. Dynamics of local temperature in the index fingertip after contact with the rifle trigger in frosty weather // *Thermology International*. 2018. Vol. 8, N. S. P. S17–S18.
35. Urakov A.L., Alies M.Yu., Nikolenko V.N., Gadelshina A.A. Dynamics of local temperature in the hands of healthy adult volunteers under the influence of frosty air contacting a cold metal object // *Thermology International*. 2019. Vol. 29, N. 2. P. 73–74.
36. Urakova N., Urakov A., Shabanov P., Sokolova V. Aerobic brain metabolism, body temperature, oxygen, fetal oxygen supply and fetal movement dynamics as factors in stillbirth and neonatal encephalopathy. Invention review // *Azerbaijan Pharmaceutical and Pharmacotherapy Journal*. 2023. Vol. 22, N. 2. P. 105–112. doi: 10.61336/appj/22-2-24
37. Неговский В.А., Уманец Н.Н. Рассказ о побежденной смерти. Москва: Политиздат, 1965. 144 с.
38. Дуглас Ч. Владимир Неговский: отец реаниматологии // *Общая реаниматология*. 2005. Т. 1, № 2. С. 57–69. EDN: ICKICJ doi: 10.15360/1813-9779-2005-2-57-69
39. Бокерия Л., Подзолков В., Глянцев С., Кокшенев И. Академик РАМН Е.Н. Мешалкин (1916–1997) и его мировой приоритет в выполнении успешного кавопульмонального анастомоза в клинике // *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2017. Т. 21, № 3S. С. 80–90. EDN: ZHRS doi: 10.21688/1681-3472-2017-3S-80-90

40. The Hypothermia after Cardiac Arrest Study Group. Mild therapeutic hypothermia to improve the neurologic outcome after cardiac arrest // *N Engl J Med*. 2002. Vol. 346. P. 549–556. doi: 10.1056/NEJMoa012689
41. Curfman G.D. Hypothermia to protect the brain // *N Engl J Med*. 2002. Vol. 346. P. 546. doi: 10.1056/NEJM200202213460802
42. Safar P.J., Kochanek P.M. Therapeutic hypothermia after cardiac arrest // *N Engl J Med*. 2002. Vol. 346. P. 612–613. doi: 10.1056/NEJM200202213460811
43. Гусейнов Н.А., Ивашкевич С.Г., Бойко Е.М. Физиологические особенности клеток и микрососудистого русла под влиянием локальной гипотермии // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина*. 2022. Т. 26, № 1. С. 34–41. EDN: TYPJJC doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-34-41
44. Ураков А.Л., Ушнуцев С.А., Замостьянова Г.Б. О влиянии гипотермии и антиангинальных препаратов с малонатподобным действием на гликолиз и окислительное фосфорилирование миокарда // *Фармакология и токсикология*. 1983. Т. 46, № 1. С. 51–54. EDN: YUGTOW
45. Ураков А.Л. Температурная фармакология: история и определение // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2021. Т. 19, № 1. С. 87–96. EDN: YIGBEQ doi: 10.17816/RCF19187-96
46. Urakov A.L., Urakova N.A., Kasatkin A.A. Local body temperature as a factor of thrombosis // *Thrombosis Res*. 2013. Vol. 131, N. S1. ID S79. doi: 10.1016/S0049-3848(13)70055-0
47. Ураков А.Л. Пути фармакологической регуляции метаболизма ишемизированного миокарда и тонуса сосудов: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Казань, 1992.
48. Ураков А.Л. Основы клинической фармакологии. Ижевск: Ижевский полиграфкомбинат, 1997. 164 с.
49. Ураков А.Л., Стрелков Н.С., Липанов А.М., и др. Бином Ньютона как «формула» развития медицинской фармакологии. Ижевск: Издательство ИПМ УрО РАН, 2007.
50. Мальчиков А.Я., Ураков А.Л., Касаткин А.А., и др. Тепловизорная визуализация лекарственных препаратов и инфильтрированных ими тканей при инъекциях // *Вестник РУДН. Серия: Медицина*. 2009. № 4. С. 134–136. EDN: KXXSLJ
51. Ураков А.Л., Уракова Н.А., Уракова Т.В., и др. Многоцветность изображения рук на экране тепловизора как показатель эффективности реанимационных мероприятий при клинической смерти // *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2010. № 1. С. 57–59. EDN: LLPJPD
52. Ураков А.Л., Уракова Н.А., Уракова Т.В., и др. Влияние кратковременной гипоксии и ишемии на температуру кистей рук и цветовую гамму их изображения на экране тепловизора // *Медицинский альманах*. 2010. № 2. С. 299–301. EDN: MBFRMR
53. Urakov A.L., Urakova N.A., Stolyarenko A.P. The “desired” temperature value in the selected area of the body is the main condition for the effectiveness of drugs // *J Bio Innov*. 2020. Vol. 9, N. 4. P. 499–504. doi: 10.46344/JBINO.2020.v09i04.09
54. Urakov A.L. The change of physical-chemical factors of the local interaction with the human body as the basis for the creation of materials with new properties // *Epitöanyag – Journal of Silicate Based and Composite Materials*. 2015. Vol. 67, N. 1. P. 2–6. doi: 10.14382/epitoanyag-jsbcm.2015.1.263
55. Urakov A.L., Urakova N.A. Time, temperature and life // *Adv Biores*. 2021. Vol. 12, N. 2. P. 246–252. doi: 10.15515/abr.0976-4585.12.2.246252
56. Ураков А.Л., Грузда А.М. После холодовая динамика инфракрасного изображения и температуры ладоней и пальцев рук мужчин в норме и при алкогольном опьянении // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2014. № 12-1. С. 109–111. EDN: TAGZWR
57. Urakov A., Nasyrov M., Chernova L. How fingers became warm after cooling // *Thermology International*. 2015. Vol. 25, N. 3. P. 123.
58. Уракова Н.А., Касаткин А.А. Влияние анестезирующих средств на динамику температуры пальцев руки после их охлаждения // *Международный научно-исследовательский журнал*. 2015. № 1-4. С. 25–27. EDN: TILJPH
59. Ураков А.Л., Одиянков Е.Г., Муравьев М.Ф., и др. Влияние температуры ишемизированной конечности на течение и прогноз ишемического поражения // *Кровообращение*. 1988. № 2. С. 43–45.
60. Ураков А.Л., Одиянков Е.Г., Одиянков Ю.Г., и др. Местная гипотермия в лечении острой непроходимости артерий конечности // *Вестник хирургии имени И.И. Грекова*. 1988. Т. 141, № 7. С. 62–65. EDN: YUERYO
61. Муравьев М.Ф., Одиянков Е.Г., Ураков А.Л., и др. Фармако-холодовая терапия при тяжелой хронической ишемии нижних конечностей // *Вестник хирургии имени И.И. Грекова*. 1989. Т. 140, № 3. С. 25–29.
62. Одиянков Ю.Г. Применение регионарной гипотермии в комплексном лечении хронической артериальной недостаточности нижних конечностей: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Куйбышев, 1988.
63. Одиянков Е.Г. Комплексная гипотермическая защита в хирургии острой тяжелой ишемии нижних конечностей: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Куйбышев, 1990.
64. Ураков А.Л., Набоков В.А. Способ остановки паренхиматозного кровотечения // *Вестник Хирургии имени И.И. Грекова*. 1988. Т. 140, № 5. С. 113–114. EDN: YUGNZD
65. Ураков А.Л. Метод стопроцентного гемостаза // *Креативная хирургия и онкология*. 2020. Т. 10, № 4. С. 270–274. EDN: JEEBCR doi: 10.24060/2076-3093-2020-10-4-270-274
66. Castro-Balado A., Mondelo-García C., Barbosa-Pereira L., et al. Development and characterization of inhaled ethanol as a novel pharmacological strategy currently evaluated in a phase II clinical trial for early-stage SARS-CoV-2 Infection // *Pharmaceutics*. 2021. Vol. 13, N. 3. ID 342. doi: 10.3390/pharmaceutics13030342
67. Gould L., Collica C., Zahir M., Gomprecht R.F. Ethyl alcohol. Effects on coronary blood flow in man // *Br Heart J*. 1972. Vol. 34, N. 8. P. 815–820. doi: 10.1136/hrt.34.8.815
68. Friedman H.S. Acute effects of ethanol on myocardial blood flow in the nonischemic and ischemic heart // *Am J Cardiol*. 1981. Vol. 47, N. 1. P. 61–67. doi:10.1016/0002-9149(81)90290-3
69. Sarma J.S.M., Venkataraman K., Samant D.R., Gadgil U. Effect of ethanol on regional myocardial blood flow and hemodynamics, before and after coronary artery ligation in dogs // *Alcohol Clin Exp Res*. 1987. Vol. 11, N. 4. P. 326–331. doi: 10.1111/j.1530-0277.1987.tb01319.x
70. Battey L.L., Heyman A., Patterson J.L. Jr. Effects of ethyl alcohol on cerebral blood flow and metabolism // *J Am Med Assoc*. 1953. Vol. 152, N. 1. P. 6–10. doi: 10.1001/jama.1953.03690010012002

71. Altura B.M., Altura B.T. Microvascular and vascular smooth muscle actions of ethanol, acetaldehyde, and acetate // *Fed Proc.* 1982. Vol. 41, N. 8. P. 2447–2451.
72. Alleyne J., Dopico A.M. Alcohol use disorders and their harmful effects on the contractility of skeletal, cardiac and smooth muscle // *Adv Drug Alcohol Res.* 2021. Vol. 1. ID 10011 doi: 10.3389/ADAR.2021.10011
73. Mendoza L.C., Hellberg K., Rickart A., et al. The effect of intravenous ethyl alcohol on the coronary circulation and myocardial contractility of the human and canine heart // *J Clin Pharmacol New Drugs.* 1971. Vol. 11, N. 3. P. 165–176. doi: 10.1177/009127007101100302
74. Itoya M., Morrison J.D., Downey H.F. Effect of ethanol on myocardial infarct size in a canine model of coronary artery occlusion-reperfusion. In: Cohen M.V., Gelpi R.J., Downey J.M., Slezak J., editors. *Myocardial ischemia and reperfusion. molecular and cellular biochemistry.* Vol. 28. Boston, MA: Springer, 1998. P. 35–41. doi: 10.1007/978-1-4615-4979-65
75. Woodrow K.M., Eltherington L.G. Feeling no pain: alcohol as an analgesic // *Pain.* 1988. Vol. 32, N. 2. P. 159–163. doi: 10.1016/0304-3959(88)90064-4
76. James M.F., Duthie A.M., Duffy B.L., et al. Analgesic effect of ethyl alcohol // *Br J Anaesth.* 1978. Vol. 50, N. 2. P. 139–141. doi: 10.1093/bja/50.2.139
77. Dreismickenbecker E., Zinn S., Romero-Richter M., et al. Electroencephalography-based effects of acute alcohol intake on the pain matrix // *Brain Sci.* 2023. Vol. 13, N. 12. ID 1659 doi: 10.3390/brainsci13121659
78. Urakov A.L., Ammer K., Dementiev V.B., et al. The contribution of Infrared Imaging to designing a “winter rifle” — An observation study // *Thermology international.* 2019. Vol. 29, N. 1. P. 40–46.
79. Urakov A., Stolyarenko A.P. Temperature dynamics of the musician’s fingers when playing the saxophone under cold condition // *Thermology International.* 2021. Vol. 31, N. 3. P. 129–131.
80. Urakov A.L., Ammer K., Stolyarenko A.P. Effect of insulating material in saxophone keys on the dynamics of fingertip skin temperature of musicians in cold weather // *Thermology International.* 2022. Vol. 32, N. 2. P. 27–35.
81. Лучаков Ю.И., Шабанов П.Д. Почему теплокровный организм быстро регулирует температуру организма в термонейтральной зоне // *Психофармакология и биологическая наркология.* 2023. Т. 14, № 3. С. 209–215. EDN: FBRYFI doi: 10.17816/phbn567971

## REFERENCES

1. Urakov AL. Aprescription for fever. *Science and Life.* 1989;(9):38–42. EDN: YUDVMG (In Russ.)
2. Minson CT. Thermal provocation to evaluate microvascular reactivity in human skin. *J Appl Physiol.* 2010;109(4):1239–1246. doi: 10.1152/jappphysiol.00414.2010
3. Brunt VE, Minson CT. Cutaneous thermal hyperemia: more than skin deep. *J Appl Physiol.* 2011;111(1):5–7. doi: 10.1152/jappphysiol.00544.2011
4. Belaventseva AV, Podolyan NP, Volynsky MA, et al. Study of blood vessels reaction to local heating by imaging photoplethysmography. *Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics.* 2023;23(1):14–20. EDN: LJPLIG doi: 10.17586/2226-1494-2023-23-1-14-20
5. Urakov AL, Urakova NA. Thermography of the skin as a method of increasing local injection safety. *Thermology International.* 2013;23(2):70–72.
6. Urakov A, Urakova N, Kasatkin A, et al. Dynamics of local temperature in the fingertips after the cuff occlusion test: Infrared diagnosis of adaptation reserves to hypoxia and assessment of survivability of victims at massive blood loss. *Rev Cardiovasc Med.* 2022;23(5):174. doi: 10.31083/j.rcm2305174
7. Cuddy MLS. The effects of drugs on thermoregulation. *AACN Clin Issues.* 2004;15(2):238–253. doi: 10.1097/00044067-200404000-00010
8. Coolbaugh CL, Bush EC, Galenti ES, et al. An individualized, perception-based protocol to investigate human physiological responses to cooling. *Front Physiol.* 2018;9:195. doi: 10.3389/fphys.2018.00195
9. Kortelainen M-L. Drugs and alcohol in hypothermia and hyperthermia related deaths: a retrospective study. *J Forensic Sci.* 1987;32(6):1704–1712. doi: 10.1520/JFS11228J
10. Ivonina EV, Soykher EM, Kopylov MV. Temperature as a factor of interaction in the form of local action of drugs. *Modern Problems of Science and Education.* 2015;(2-1)133. EDN: UHWYPV
11. Urakov AL, Kasatkin AA, Urakova NA, Urakova TV. Cold sodium chloride solution 0.9% and infrared thermography can be an alternative to radiopaque contrast agents in phlebography. *J Pharmacol Pharmacother.* 2016;7(3):138–139. doi: 10.4103/0976-500X.189675
12. Urakov AL, Urakova NA, Reshetnikov AP, et al. Dynamics of the local temperature of skin, inner surface of cheeks and buccal gingiva after the application of an standard instant ice pack to patient’s face. *Thermology international.* 2018;28(2):99–100.
13. Jung A, Wiesek B, Ring EFJ, et al. Standardisation of the technique of thermal imaging in medicine: issues for the creation of a reference atlas of normal thermograms. *Thermology International.* 2004;14(2):77–81.
14. Urakov AL, Ammer K, Urakova NA, et al. Infrared thermography can discriminate the cause of skin discolourations. *Thermology International.* 2015;25(4):209–215. doi: 10.21611/qirt.2016.140
15. Urakov A, Urakova N. Finger temperature when shooting from a rifle in the cold: thermal recommendations. *Sport Sci.* 2020;13(1):135–143.
16. Urakov AL. *Temperature prescription.* Izhevsk: Udmurtia, 1988. 80 p. (In Russ.)
17. Urakov A, Urakova N, Fisher E, et al. Antiseptic pyolytics and warming wet compresses improve the prospect of healing chronic wounds. *Explor Med.* 2023;4:747–754. doi: 10.37349/emed.2023.00175
18. Gurevich K, Urakov A, Fisher E, Shubina Z. Alkaline hydrogen peroxide solution is an expectorant, pyolytic, mucolytic, hemolytic, and bleaching drug for treating purulent diseases, hematomas and bruising. *J Pharm Res Int.* 2022;34(30B):13–20. doi: 10.9734/jpri/2022/v34i30B36073
19. Fisher EL, Urakov AL, Samorodov AV, et al. Alkaline hydrogen peroxide solutions: expectorant, pyolytic, mucolytic, haemolytic,

- oxygen-releasing, and decolorizing effects. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2023;21(2):135–150. EDN: UDPAZJ doi: 10.17816/RCF492316
20. Sosin DV, Yevseyev AV, Parfenov EA, et al. Hypothermic effect of antihypoxants  $\pi$ Q1983 and  $\pi$ Q2170. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2012;10(4):78–82. EDN: QZKXWD doi: 10.17816/RCF10478-82
21. Esclamado RM, Damiano GA, Cummings CW. Effect of local hypothermia on early wound repair. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1990;116(7):803–808. doi: 10.1001/archotol.1990.01870070051009
22. Derwin R, Patton D, Avsar P, et al. The impact of topical agents and dressing on pH and temperature on wound healing: A systematic, narrative review. *Int Wound J*. 2022;19(6):1397–1408. doi: 10.1111/iwj.13733
23. Urakov AL. Infrared monitoring of the dynamics of the local temperature as a symptom of adaptation to hypoxia and efficiency of antihypoxic drugs. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2019;17(1):79–86. EDN: UIYGJA doi: 10.17816/RCF17179-86
24. Urakov AL. Cold in protection of the heart. *Advances in modern natural science*. 2013;(11):32–36. EDN: RCHMBP
25. Omairi AM, Pandey S. Targeted temperature management. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023.
26. Urakov A, Urakova N, Kasatkin A, Demytyev V. Temperature and blood rheology in fingertips as signs of adaptation to acute hypoxia. *JOP Conf Series*. 2017;790:012034. doi: 10.1088/1742-6596/790/1/012034
27. Urakov AL, Kasatkin AA, Ammer K, Gurevich KG. The dynamics of fingertip temperature during voluntary breath holding and its relationship to transcutaneous oximetry. *Thermology international*. 2019;29(2):65–66.
28. Urakov AL, Urakova TV, Kasatkin AA. Infrared thermography to assess the blood donors adaptation to blood loss. *Thermology international*. 2016;26(2):S13.
29. Urakova NA, Urakov AL. Thermal imaging for increasing the diagnostic accuracy in fetal hypoxia: Concept and practice suggestions. In: Ng EYK, Etehadtavakol M, editors. *Application of infrared to biomedical sciences, series in bioengineering*. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2017. P. 277–289. doi: 10.1007/978-981-10-3147-2\_16
30. Urakov AL, Kasatkin AA, Urakova NA. Changes the local temperature of venous blood and venous vessel walls as the basis for visualization of superficial veins in the infrared venography, using temperature-induced tissue contrast. In: Ng EYK, Etehadtavakol M, editors. *Application of infrared to biomedical sciences, series in bioengineering*. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2017. P. 429–436. doi: 10.1007/978-981-10-3147-2\_24
31. Urakov AL, Kasatkin AA, Urakova NA, Ammer K. Infrared thermographic investigation of fingers and palms during and after application of cuff occlusion test in patients with hemorrhagic shock. *Thermology International*. 2014;24(1):5–10.
32. Urakov A, Urakova N. Thermal imaging improves the accuracy of estimation of human resistance to sudden hypoxia. In: Tavares JMRS, Natal Jorge RM, editors. *Lecture Notes in Computational Vision and Biomechanics. VipIMAGE 2017. Proceedings of the VI ECCOMAS thematic conference on computational vision and medical image processing*. Porto, Portugal, Oct 18–20, 2017. Vol. 27. Kluwer Academic Publishers, Springer International Publishing AG 2018. 2018. P. 957–961. doi: 10.1007/978-3-319-68195-5\_104
33. Kasatkin AA, Urakov AL. Correlation between arterial blood gases indices and the temperature of fingers after cuff occlusion test in patients with acute blood loss. *Thermology international*. 2018;28(2):123.
34. Urakov AL, Dement'ev VB, Gadelshina AA. Dynamics of local temperature in the index fingertip after contact with the rifle trigger in frosty weather. *Thermology International*. 2018;8(S):S17–S18.
35. Urakov AL, Alies MYu, Nikolenko VN, Gadelshina AA. Dynamics of local temperature in the hands of healthy adult volunteers under the influence of frosty air contacting a cold metal object. *Thermology International*. 2019;29(2):73–74.
36. Urakova N, Urakov A, Shabanov P, Sokolova V. Aerobic brain metabolism, body temperature, oxygen, fetal oxygen supply and fetal movement dynamics as factors in stillbirth and neonatal encephalopathy. Invention review. *Azerbaijan Pharmaceutical and Pharmacotherapy Journal*. 2023;22(2):105–112. doi: 10.61336/appj/22-2-24
37. Negovsky VA, Umanets NN. *Tale of defeated death*. Moscow: Politizdat, 1965. 144 p. (In Russ.)
38. Douglas Ch. Vladimar Negovsky: The father of reanimatology. *General Reanimatology*. 2005;1(2):57–69. EDN: ICKICJ doi: 10.15360/1813-9779-2005-2-57-69
39. Bockeria L, Podzolkov V, Glyantsev S, Kokshenev I. E.N. Meshalkin (1916–1997) and his priority in the creation of the world's first successful cavo-pulmonary anastomosis in clinic. *Circulation pathology and cardiac surgery*. 2017;21(3S):80–90. EDN: ZHRS doi: 10.21688/1681-3472-2017-3S-80-90
40. The Hypothermia after Cardiac Arrest Study Group. Mild therapeutic hypothermia to improve the neurologic outcome after cardiac arrest. *N Engl J Med*. 2002;346:549–556. doi: 10.1056/NEJMoa012689
41. Curfman GD. Hypothermia to protect the brain. *N Engl J Med*. 2002;346:546. doi: 10.1056/NEJM200202213460802
42. Safar PJ, Kochanek PM. Therapeutic hypothermia after cardiac arrest. *N Engl J Med*. 2002;346:612–613. doi: 10.1056/NEJM200202213460811
43. Guseynov NA, Ivashkevich SG, Boyko EM. Physiological features of cells and microvasculature under the local hypothermia influence. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(1):34–41. EDN: TYPJJC doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-34-41
44. Urakov AL, Ushnurtsev SA, Zamostyanova GB. On the effect of hypothermia and antianginal drugs with malonate-like action on glycolysis and oxidative phosphorylation of myocardium. *Pharmacology and toxicology*. 1983;46(1):51–54. EDN: YUGTOW
45. Urakov AL. Thermal pharmacology: history and definition. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2021;19(1):87–96. EDN: YIGBEQ doi: 10.17816/RCF19187-96
46. Urakov AL, Urakova NA, Kasatkin AA. Local body temperature as a factor of thrombosis. *Thrombosis Res*. 2013;131(S1):S79. doi: 10.1016/S0049-3848(13)70055-0
47. Urakov AL. *Pathways of pharmacological regulation of ischaemic myocardial metabolism and vascular tone* [dissertation abstract]. Kazan, 1992. (In Russ.)
48. Urakov AL. *Fundamentals of clinical pharmacology*. Izhevsk: Izhevsk Polygraph Combine, 1997. 164 p. (In Russ.)
49. Urakov AL, Strelkov NS, Lipanov AM, et al. *Newton's Binomial as a "formula" for the development of medical pharmacology*. Izhevsk: Publishing house of IPM Ural Branch of RAS, 2007. (In Russ.)

50. Malchikov AJ, Urakov AL, Kasatkin AA, et al. Teplovision visualisation medicinal facilities and infiltrovannykh by them fabrios at injections. *RUDN journal of medicine*. 2009;(4):134–136. EDN: KXXSLJ
51. Urakov AL, Urakova NA, Urakova TV, et al. Multicolored images of hands on the screen as an indicator of efficiency thermal resuscitation at clinical death. *Journal of Ural medical academic science*. 2010;(1):57–59. EDN: LLPJPD
52. Urakov AL, Urakova NA, Urakova TV, et al. Effect of short-term hypoxia and ischemia for temperature hands and colors of their images on screen thermal. *Medical almanac*. 2010;(2):299–301. EDN: MBFRMR
53. Urakov AL, Urakova NA, Stolyarenko AP. The “desired” temperature value in the selected area of the body is the main condition for the effectiveness of drugs. *J Bio Innov*. 2020;9(4):499–504. doi: 10.46344/JBINO.2020.v09i04.09
54. Urakov AL. The change of physical-chemical factors of the local interaction with the human body as the basis for the creation of materials with new properties. *Epitđanyag – Journal of Silicate Based and Composite Materials*. 2015;67(1):2–6. doi: 10.14382/epitoanyag-jsbcm.2015.1.263
55. Urakov AL, Urakova NA. Time, temperature and life. *Adv Biores*. 2021;12(2):246–252. doi: 10.15515/abr.0976-4585.12.2.246252
56. Urarov AL, Gruzda AM. After cooling dynamics of the infrared image and temperature of palms and fingers of mans in norm and under alcohol intoxication. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2014;(12-1):112–114. EDN: TAGZWR
57. Urakov A, Nasyrov M, Chernova L. How fingers became warm after cooling. *Thermology International*. 2015;25(3):123.
58. Urakova NA, Kasatkin AA. Influence of anaesthetics on the dynamics of the temperature of fingers after cooling. *International research journal*. 2015;(1-4):25–27. EDN: TILJPH
59. Urarov AL, Odiyankov EG, Muravyev MF, et al. Influence of temperature of the ischaemic limb on the course and prognosis of ischaemic lesions. *Blood circulation*. 1988;(2):43–45. (In Russ.)
60. Urarov AL, Odiyankov EG, Odiyankov YuG, et al. Local hypothermia in the treatment of acute limb arterial obstruction. *Grekov's bulletin of surgery*. 1988;141(7):62–65. EDN: YUERYO
61. Muravyev MF, Odiyankov EG, Urarov AL, et al. *Pharmaco-cold therapy in severe chronic lower limb ischaemia*. *Grekov's bulletin of surgery*. 1989;140(3):25–29.
62. Odiyankov YuG. *Application of regional hypothermia in complex treatment of chronic arterial insufficiency of lower limbs* [dissertation abstract]. Kuibyshev, 1988. (In Russ.)
63. Odiyankov EG. *Complex hypothermic protection in surgery of acute severe lower limb ischaemia* [dissertation abstract]. Kuibyshev; 1990. (In Russ.)
64. Urarov AL, Nabokov VA. Method of stopping parenchymatous haemorrhage. *Grekov's bulletin of surgery*. 1988;140(5):113–114. EDN: YUGNZD
65. Urakov AL. A technique for absolute haemostasis. *Creative surgery and oncology*. 2020;10(4):270–274. EDN: JEEBCR doi: 10.24060/2076-3093-2020-10-4-270-274
66. Castro-Balado A, Mondelo-García C, Barbosa-Pereira L, et al. Development and characterization of inhaled ethanol as a novel pharmacological strategy currently evaluated in a phase II clinical trial for early-stage SARS-CoV-2 Infection. *Pharmaceutics*. 2021;13(3):342. doi: 10.3390/pharmaceutics13030342
67. Gould L, Collica C, Zahir M, Gomprecht RF. Ethyl alcohol. Effects on coronary blood flow in man. *Br Heart J*. 1972;34(8):815–820. doi: 10.1136/hrt.34.8.815
68. Friedman HS. Acute effects of ethanol on myocardial blood flow in the nonischemic and ischemic heart. *Am J Cardiol*. 1981;47(1):61–67. doi: 10.1016/0002-9149(81)90290-3
69. Sarma JSM, Venkataraman K, Samant DR, Gadgil U. Effect of ethanol on regional myocardial blood flow and hemodynamics, before and after coronary artery ligation in dogs. *Alcohol Clin Exp Res*. 1987;11(4):326–331. doi: 10.1111/j.1530-0277.1987.tb01319.x
70. Battey LL, Heyman A, Patterson JL Jr. Effects of ethyl alcohol on cerebral blood flow and metabolism. *J Am Med Assoc*. 1953;152(1):6–10. doi: 10.1001/jama.1953.03690010012002
71. Altura BM, Altura BT. Microvascular and vascular smooth muscle actions of ethanol, acetaldehyde, and acetate. *Fed Proc*. 1982;41(8):2447–2451.
72. Alleyne J, Dopico AM. Alcohol use disorders and their harmful effects on the contractility of skeletal, cardiac and smooth muscle. *Adv Drug Alcohol Res*. 2021;1:10011. doi: 10.3389/ADAR.2021.10011
73. Mendoza LC, Hellberg K, Rickart A, et al. The effect of intravenous ethyl alcohol on the coronary circulation and myocardial contractility of the human and canine heart. *J Clin Pharmacol New Drugs*. 1971;11(3):165–176. doi: 10.1177/009127007101100302
74. Itoya M, Morrison JD, Downey HF. Effect of ethanol on myocardial infarct size in a canine model of coronary artery occlusion-reperfusion. In: Cohen MV, Gelpi RJ, Downey JM, Slezak J, editors. *Myocardial ischemia and reperfusion. molecular and cellular biochemistry*. Vol. 28. Boston, MA: Springer, 1998. P. 35–41. doi: 10.1007/978-1-4615-4979-6\_5
75. Woodrow KM, Eltherington LG. Feeling no pain: alcohol as an analgesic. *Pain*. 1988;32(2):159–163. doi: 10.1016/0304-3959(88)90064-4
76. James MF, Duthie AM, Duffy BL, et al. Analgesic effect of ethyl alcohol. *Br J Anaesth*. 1978;50(2):139–141. doi: 10.1093/bja/50.2.139
77. Dreismickenbecker E, Zinn S, Romero-Richter M, et al. Electroencephalography-based effects of acute alcohol intake on the pain matrix. *Brain Sci*. 2023;13(12):1659. doi: 10.3390/brainsci13121659
78. Urakov AL, Ammer K, Dementiev VB, et al. The contribution of Infrared Imaging to designing a “winter rifle” – An observation study. *Thermology international*. 2019;29(1):40–46.
79. Urakov A, Stolyarenko AP. Temperature dynamics of the musician's fingers when playing the saxophone under cold condition. *Thermology International*. 2021;31(3):129–131.
80. Urakov AL, Ammer K, Stolyarenko AP. Effect of insulating material in saxophone keys on the dynamics of fingertip skin temperature of musicians in cold weather. *Thermology International*. 2022;32(2):27–35.
81. Luchakov YI, Shabanov PD. Why does a warm-blooded organism rapidly regulates body temperature in the thermoneutral zone. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2023;14(3):209–215. EDN: FBRYFI doi: 10.17816/phbn567971

## ОБ АВТОРЕ

**Александр Ливиевич Ураков**, д-р мед. наук, профессор;  
адрес: Россия, Ижевск, 426034, ул. Коммунаров, 281;  
ORCID: 0000-0002-9829-9463; eLibrary SPIN: 1613-9660;  
e-mail: urakoval@live.ru

## AUTHOR INFO

**Aleksandr L. Urakov**, MD, Dr. Sci. (Medicine, Pharmacology),  
Professor; address: 281 Kommunarov st., Izhevsk, Russia;  
ORCID: 0000-0002-9829-9463; eLibrary SPIN: 1613-9660;  
e-mail: urakoval@live.ru

УДК 612.825:615.214

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn630267>

# Влияние унилатеральной корковой инактивации на обмен моноаминов в симметричных структурах переднего мозга белых беспородных мышей

И.В. Карпова<sup>1</sup>, В.В. Михеев<sup>2</sup>, Е.Р. Бычков<sup>1</sup>, П.Д. Шабанов<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;<sup>2</sup> Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

## АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** В клинических наблюдениях и экспериментах на животных показана латеральная специфичность действия соединений, изменяющих моноаминергическую передачу. Однако механизм данного явления до сих пор не исследован.

**Цель работы** — изучить влияние унилатеральной корковой распространяющейся депрессии на обмен моноаминов у белых беспородных мышей.

**Материалы и методы.** Эксперименты проведены на 18 половозрелых самцах белых беспородных мышей. Функциональное выключение коры одного из больших полушарий головного мозга вызывали путем унилатеральной эпидуральной аппликации фильтровальной бумаги размером 1×1 мм, смоченной 25 % раствором КСl. Через 15 мин после воздействия животных декапитировали. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимическим детектором в коре больших полушарий, гиппокампе, обонятельном бугорке и стриатуме определяли содержание норадреналина, дофамина, серотонина и их метаболитов: диоксифенилуксусной (ДОФУК), гомованилиновой (ГВК) и 5-гидроксииндолуксусной (5-ГИУК) кислот.

**Результаты.** Выключение левого полушария вызывало билатеральное снижение уровня норадреналина в гиппокампе, ипсилатеральное возрастание показателей экстраклеточного обмена дофамина (ГВК и/или ГВК/дофамин) в обонятельном бугорке и стриатуме, а также контралатеральное увеличение содержания дофамина в коре и гиппокампе. Помимо этого при выключении левого полушария снижалось соотношение ДОФУК/дофамин в правом обонятельном бугорке. Выключение правого полушария не вызывало билатеральных эффектов. При этом на стороне инактивации в гиппокампе снижался уровень норадреналина, а в стриатуме возрастал уровень ГВК. На противоположной (левой) стороне при выключении правого полушария увеличивалось содержание дофамина в гиппокампе, а также ДОФУК и соотношение ДОФУК/дофамин в обонятельном бугорке. Только при выключении правого полушария выявлено возрастание обмена серотонина (5-ГИУК/серотонин) в правом гиппокампе и в левом обонятельном бугорке.

**Заключение.** Моноаминергические эффекты функциональной инактивации коры левого и правого полушария у белых беспородных мышей не являются зеркально-симметричными.

**Ключевые слова:** корковая распространяющаяся депрессия; моноамины; асимметрия головного мозга.

## Как цитировать

Карпова И.В., Михеев В.В., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. Влияние унилатеральной корковой инактивации на обмен моноаминов в симметричных структурах переднего мозга белых беспородных мышей // лях. 2024. Т. 15, № 2. С. 107–115. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn630267>

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn630267>

# Effects of unilateral cortical inactivation on monoamine metabolism in symmetrical forebrain areas of white outbred mice

Inessa V. Karpova<sup>1</sup>, Vladimir V. Mikheev<sup>2</sup>, Evgenii R. Bychkov<sup>1</sup>, Petr D. Shabanov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup> Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Clinical observations and animal experiments have shown the lateral specificity of the action of compounds that alter monoaminergic transmission. However, the mechanism of this phenomenon has not yet been studied.

**AIM:** To evaluate the effect of unilateral cortical spreading depression on monoamine metabolism in white outbred mice.

**MATERIALS AND METHODS:** Eighteen sexually mature male white outbred mice were studied. Functional inactivation of the cortex of one of the cerebral hemispheres was induced using unilateral epidural application of 1 × 1 mm filter paper moistened with 25% KCl solution. Then, 15 minutes after exposure, the animals were decapitated. The norepinephrine, dopamine, serotonin, and metabolite (i.e., dioxyphenylacetic (DOPAC), homovanilinic (HVA), and 5-hydroxyindolacetic (5-HIAA) acids) content of the cerebral cortex, hippocampus, olfactory tubercle, and striatum was measured using the HPLC method with an electrochemical detector.

**RESULTS:** The inactivation of the left hemisphere was due to a bilateral decrease in norepinephrine in the hippocampus, an ipsilateral increase in extracellular metabolism of dopamine (HVA and/or HVA/dopamine) in the olfactory tubercle and striatum, and a contralateral increase of dopamine in the cortex and hippocampus. Furthermore, the DOPAC/dopamine ratio in the right olfactory tubercle decreased with left hemisphere inactivation. Right hemisphere inactivation did not cause bilateral effects. With inactivation of the right hemisphere on the inactivation side, norepinephrine in the hippocampus decreased and HVA in the striatum increased. In the left side, with the inactivation of the right hemisphere mice, dopamine in the hippocampus increased, as well as the DOPAC level and DOPAC/dopamine ratio in the olfactory tubercle. Serotonin metabolism (5-HIAA/serotonin) in the right hippocampus and left olfactory tubercle increased only at inactivation of the right hemisphere.

**CONCLUSIONS:** The monoaminergic effects of functional inactivation of the left and right hemisphere cortex in white outbred mice are not mirror-symmetrical.

**Keywords:** cortical spreading depression; monoamines; brain asymmetry.

## To cite this article

Karpova IV, Mikheev VV, Bychkov ER, Shabanov PD. Effects of unilateral cortical inactivation on monoamine metabolism in symmetrical forebrain areas of white outbred mice. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2024;15(2):107–115. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn630267>

Received: 20.02.2024

Accepted: 21.03.2024

Published online: 12.04.2024

## ОБОСНОВАНИЕ

Изменение профиля функциональной межполушарной асимметрии у пациентов под действием психотропных препаратов отмечено еще в начале 2000-х годов [1, 2]. Нейролептики усиливают доминирование правого полушария, а антидепрессанты — левого [1]. В экспериментах на животных с применением метода унилатеральной корковой распространяющейся депрессии [3, 4] было показано, что функциональная инактивация коры правого и левого полушария по-разному влияет на эффективность соединений, изменяющих катехоламинергическую передачу [5]. Однако в литературе до сих пор отсутствуют данные о влиянии этой процедуры на обмен моноаминов.

Целью работы было изучение действия унилатеральной корковой распространяющейся депрессии на обмен моноаминов в симметричных структурах переднего мозга у белых беспородных мышей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проводили на 18 половозрелых самцах беспородных мышей массой 22–24 г. Животных содержали по 6 особей в стандартных клетках-террариумах со свободным доступом к пище и воде. Эксперименты начинали не ранее чем через 2 нед после поступления животных из питомника. Перед началом эксперимента мыши были разделены на три группы, по 6 особей в каждой: с выключенным левым полушарием, с выключенным правым полушарием и ложнооперированные. За 48 ч до эксперимента у животных под эфирным наркозом удаляли фрагмент кожи между ушами и надкостницу с обнажившейся поверхности черепа, после чего над одной из гемисфер в теменной кости высверливали отверстие диаметром 1–1,5 мм. В день эксперимента вызывали одностороннюю корковую распространяющуюся депрессию. Для этого из трепанационного отверстия удаляли кровяной сгусток и на обнажившуюся поверхность твердой мозговой оболочки накладывали фрагмент фильтровальной бумаги 1×1 мм, смоченной 25 % раствором хлорида калия [4, 5]. Контролем служили ложнооперированные мыши, которые были подвергнуты тем же подготовительным операциям и манипуляциям, за исключением трепанации черепа и воздействия KCl. Через 15 мин после аппликации KCl каждое животное помещали на гладкую горизонтальную поверхность и визуально оценивали положение головы относительно тела животного, после чего животных декапитировали.

Из правой и левой половин мозга на льду выделяли кору больших полушарий, гиппокамп, обонятельный бугорок (компонент вентрального стриатума) и дорсальный стриатум (далее — стриатум), которые сразу помещали в 0,1 М раствор соляной кислоты. Объем раствора для подготовки проб мозга мышей был следующим: стриатум — 50 мкл, гиппокамп и обонятельный

бугорок — 100 мкл, кора больших полушарий — 150 мкл. Пробы гомогенизировали с помощью механического гомогенизатора-блендера (10000 об/мин), после чего центрифугировали в течение 20 мин с ускорением 14 000 g при +6 °С. Надосадочную жидкость собирали в пробирки и хранили до анализа при температуре не выше –70 °С. Пробы повторно размораживали в день анализа и вновь центрифугировали (14 000 g, 20 мин, при +6 °С) во избежание возможного попадания оставшихся частиц осадка в хроматографическую систему. Концентрации норадреналина (НА), дофамина (ДА), серотонина (5-ГТ) и их метаболитов — диоксифенилуксусной (ДОФУК), гомованилиновой (ГВК) и 5-гидроксииндолуксусной (5-ГИУК) кислот определяли методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией на хроматографе Beckman Coulter (Beckman Coulter Inc., США). Хроматографическая система включала инжектор Rheodyne 7125 (Rheodyne LLC, США) с петлей на 20 мкл для нанесения образцов, колонку Phenomenex (4,6×250,0 мм) с сорбентом Sphere Clone 5 u ODS(2) (Phenomenex Inc., США) и амперометрический детектор LC-4C BAS (Bioanalytical Systems Inc., США). Концентрацию исследуемых веществ определяли при потенциале +0,70 В. Подвижная фаза содержала 5,5 мМ цитратно-фосфатного буфера с 0,7 мМ октансульфоновой кислотой, 0,5 мМ EDTA и 7,5 % ацетонитрила (pH 3,0). Скорость элюции подвижной фазы — 1 мл/мин, время анализа одной пробы — около 20 мин.

Результаты обрабатывали с использованием пакета прикладных программ GraphPad Prism, версия 6.0 (GraphPad Software, США). Для попарного сравнения групп применяли непарный *t*-критерий Стьюдента. Различия между одноименными показателями левой и правой сторон мозга оценивали по парному *t*-критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Выключение коры правого полушария (ВПП) у всех мышей, подвергнутых данной процедуре, сопровождалось поворотом головы вправо, в результате чего животное приобретало тенденцию к движению по часовой стрелке. Важно отметить, что движение было непродолжительным и происходило сразу после помещения животного на горизонтальную поверхность. Спонтанной ротации мы не наблюдали. У животных с выключенной корой левого полушария (ВЛП) не обнаружено закономерных проявлений позной асимметрии.

Изменения содержания моноаминов и их метаболитов в коре больших полушарий представлены в табл. 1.

У мышей с интактным мозгом в коре левого полушария уровень ДА был выше, чем в коре правого. При ВЛП уровень ДА в правой коре возрастал ( $p < 0,05$ ) и асимметрия исчезала. При ВЛП также увеличивалось содержание ГВК в коре правого (контралатерального) полушария ( $p < 0,05$ ).

**Таблица 1.** Влияние функционального выключения коры одного из полушарий на содержание моноаминов и их метаболитов в коре больших полушарий головного мозга у белых беспородных мышей

**Table 1.** Effects of functional inactivation of the cortex of one of the hemispheres on monoamine content and their metabolites in the brain cortex in white outbred mice

Параметр	Группа животных (воздействие)					
	ложнооперированные		выключение коры левого полушария		выключение коры правого полушария	
По отношению к исследуемой стороне мозга	–		ипси-	контра-	контра-	ипси-
Сторона мозга	Левая	Правая	Левая	Правая	Левая	Правая
Норадреналин	0,19 ± 0,05	0,22 ± 0,03	0,14 ± 0,03	0,18 ± 0,01	0,21 ± 0,04	0,09 ± 0,01 <sup>#:*</sup> <b>p = 0,0593</b>
Дофамин	0,13 ± 0,03	0,07 ± 0,03 <sup>#AC</sup>	0,18 ± 0,05	0,16 ± 0,03*	0,13 ± 0,01	0,14 ± 0,03
ДОФУК	0,11 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,13 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,13 ± 0,04	0,11 ± 0,06
ДОФУК/дофамин	0,73 ± 0,13	1,16 ± 0,01	0,99 ± 0,26	1,26 ± 0,40	1,07 ± 0,28	0,97 ± 0,35
ГВК	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,12 ± 0,01*	0,09 ± 0,01	0,13 ± 0,03
ГВК/дофамин	0,65 ± 0,17	0,90 ± 0,35	0,77 ± 0,14	0,87 ± 0,23	0,76 ± 0,14	0,89 ± 0,11 <sup>#AC</sup>
5-ГТ	0,18 ± 0,04	0,13 ± 0,02	0,14 ± 0,03	0,20 ± 0,04	0,18 ± 0,03	0,17 ± 0,01
5-ГИУК	0,25 ± 0,02	0,23 ± 0,02	0,23 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,28 ± 0,02 <sup>##:AC</sup>
5-ГИУК/5-ГТ	1,4 ± 0,3	1,75 ± 0,24	1,65 ± 0,23	1,18 ± 0,17	1,42 ± 0,23	1,69 ± 0,20

*Примечание:* \* $p < 0,05$ , (<sup>\*</sup>) $p = 0,0593$  — отличия от соответствующего показателя, измеренного у ложнооперированных животных; <sup>#</sup> $p < 0,05$ , <sup>##</sup> $p < 0,01$  — достоверные различия результатов выключения коры полушария, ипсилатерального и контралатерального по отношению к стороне измеряемого параметра; <sup>#AC</sup> $p < 0,05$  — проявления асимметрии (различия между соответствующими показателями левой и правой стороны мозга) по  $t$ -критерию Стьюдента. 5-ГТ — серотонин; ДОФУК — диоксифенилуксусная кислота; ГВК — гомованилиновая кислота; 5-ГИУК — 5-гидроксииндолуксусная кислота.

*Note:* \* $p < 0,05$ , (<sup>\*</sup>) $p = 0,0593$ , differences from the corresponding index measured in sham-operated animals; <sup>#</sup> $p < 0,05$ ; <sup>##</sup> $p < 0,01$ , reliable differences between the results of the cortical silencing of the hemisphere, ipsilateral and contralateral to the side of the measured parameter; <sup>#AC</sup> $p < 0,05$ , asymmetry signs (differences between the corresponding indices of the left and right sides of the brain) according to Student's  $t$ -criterion. 5-ГТ — serotonin; ДОФУК — dioxyphenylacetic acid; ГВК — homovanilic acid; 5-ГИУК — 5-hydroxyindoleacetic acid.

В коре больших полушарий у белых беспородных мышей содержание НА достоверно не изменялось. Только при ВПП была отмечена тенденция к снижению уровня данного медиатора справа ( $p = 0,0593$ ). Однако уровень НА в правой коре на фоне ВПП был достоверно ниже, чем аналогичный параметр после ВЛП ( $p < 0,05$ ). Кроме того, при ВПП возникала правосторонняя асимметрия по соотношению ГВК/ДА ( $p < 0,05$ ) и 5-ГИУК ( $p < 0,05$ ) (см. табл. 1). Особенность изменения 5-ГИУК в правой коре заключалась в том, что при ВЛП данный показатель несколько снижался, а при ВПП — повышался. В результате содержание 5-ГИУК в правой коре «выключенного» полушария (при ВПП) оказывалось выше, чем в правой коре «активного» полушария (при ВЛП) ( $p < 0,01$ , см. табл. 1). Таким образом, эффекты функционального ВПП не были зеркальным отражением результатов аналогичного влияния на левую кору.

В гиппокампе у белых беспородных мышей ВЛП приводило к билатеральному снижению уровня НА ( $p < 0,05$ ) и к появлению асимметрии с преобладанием НА в контралатеральном (правом) полушарии ( $p = 0,0538$ , табл. 2). При ВПП содержание НА уменьшалось только слева ( $p < 0,05$ ). При унилатеральном выключении коры в контралатеральном гиппокампе увеличивалось содержание

ДА ( $p < 0,05$ ). В отличие от коры больших полушарий, где аналогичный эффект наблюдался только при ВЛП, уровень ДА в контралатеральном гиппокампе повышался как при ВЛП ( $p < 0,05$ ), так и при ВПП ( $p < 0,05$ , см. табл. 2). В гиппокампе у контрольных мышей выявлена тенденция к асимметрии показателей 5-ГТ-эргической системы: преобладание 5-ГТ справа ( $p = 0,0783$ ) и соотношения 5-ГИУК/5-ГТ слева ( $p = 0,0994$ ). Под воздействием ВЛП эти тенденции перерастали в достоверные различия ( $p < 0,05$ ). ВПП сказывалось только на соотношении 5-ГИУК/5-ГТ, вызывая асимметрию с преобладанием этого показателя на стороне «выключенного» полушария. Изменения, которые происходили в обонятельном бугорке под влиянием функциональной инактивации коры одного из полушарий, также не были зеркально симметричными (табл. 3). Так, при ВЛП в ипсилатеральном (левом) обонятельном бугорке увеличивалось содержание ГВК ( $p < 0,01$ ), что сопровождалось возрастанием соотношения ГВК/ДА ( $p < 0,05$ ) и появлением левосторонней асимметрии по данному показателю ( $p < 0,01$ ). При этом в контралатеральном (правом) обонятельном бугорке уменьшалось соотношение ДОФУК/ДА, и этот параметр становился асимметричным ( $p = 0,0536$ ). ВПП, напротив, приводило к возрастанию соотношения ДОФУК/ДА в контралатеральном

**Таблица 2.** Влияние функционального выключения коры одного из полушарий на содержание моноаминов и их метаболитов в гиппокампе у белых беспородных мышей**Table 2.** Effects of functional inactivation of the cortex of one of the hemispheres on monoamine content and their metabolites in the hippocampus in white outbred mice

Параметр	Группа животных (воздействие)					
	ложнооперированные		выключение коры левого полушария		выключение коры правого полушария	
По отношению к исследуемой стороне мозга	–		ипси-	контра-	контра-	ипси-
Сторона мозга	Левая	Правая	Левая	Правая	Левая	Правая
Норадреналин	0,34 ± 0,03	0,39 ± 0,03	0,22 ± 0,03*	0,29 ± 0,02* <sup>(#)AC</sup> <b>p = 0,0538</b>	0,32 ± 0,04 <sup>#</sup>	0,29 ± 0,03*
Дофамин	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,12 ± 0,01*	0,11 ± 0,02*	0,11 ± 0,01
5-ГТ	0,45 ± 0,04	0,55 ± 0,05	0,44 ± 0,03	0,50 ± 0,05 <sup>#AC</sup>	0,48 ± 0,04	0,42 ± 0,05
5-ГИУК	0,36 ± 0,04	0,38 ± 0,05	0,38 ± 0,02	0,31 ± 0,03 <sup>#AC</sup>	0,37 ± 0,03	0,39 ± 0,04
5-ГИУК/5-ГТ	0,80 ± 0,03	0,70 ± 0,06	0,87 ± 0,09	0,66 ± 0,10 <sup>#AC</sup>	0,80 ± 0,08	0,97 ± 0,10* <sup>#</sup> <sup>#AC</sup>

*Примечание:* \* $p < 0,05$  — отличия от соответствующего показателя, измеренного у ложнооперированных животных; <sup>#</sup> $p < 0,05$  — достоверные различия результатов выключения коры полушария, ипсилатерального и контралатерального по отношению к стороне измеряемого параметра; <sup>#AC</sup> $p < 0,05$ , <sup>(#)AC</sup> $p = 0,0538$  — проявления асимметрии (различия между соответствующими показателями левой и правой стороны мозга) по  $t$ -критерию Стьюдента.

Обозначения см. в примечании к табл. 1.

*Note:* \* $p < 0.05$ , differences from the corresponding index measured in sham-operated animals; <sup>#</sup> $p < 0.05$ , reliable differences between the results of the cortical silencing of the hemisphere, ipsilateral and contralateral to the side of the measured parameter; <sup>#AC</sup> $p < 0.05$ , <sup>(#)AC</sup> $p = 0.0538$ , asymmetry signs (differences between the corresponding indices of the left and right sides of the brain) according to Student's  $t$ -criterion.

**Таблица 3.** Влияние функционального выключения коры одного из полушарий на содержание моноаминов и их метаболитов в обонятельном бугорке у белых беспородных мышей**Table 3.** Effects of functional inactivation of the cortex of one of the hemispheres on monoamine content and their metabolites in the olfactory tubercle in white outbred mice

Параметр	Группа животных (воздействие)					
	ложнооперированные		выключение коры левого полушария		выключение коры правого полушария	
По отношению к исследуемой стороне мозга	–		ипси-	контра-	контра-	ипси-
Сторона мозга	Левая	Правая	Левая	Правая	Левая	Правая
Норадреналин	0,30 ± 0,03	0,31 ± 0,04	0,31 ± 0,04	0,42 ± 0,04	0,27 ± 0,03	0,29 ± 0,05 <sup>#</sup>
Дофамин	1,28 ± 0,09	1,35 ± 0,15	1,53 ± 0,10	1,71 ± 0,10 <sup>#AC</sup>	1,41 ± 0,15	1,39 ± 0,16
ДОФУК	0,26 ± 0,07	0,28 ± 0,05	0,28 ± 0,03	0,21 ± 0,04	0,44 ± 0,06*	0,38 ± 0,04 <sup>#</sup>
ДОФУК/дофамин	0,20 ± 0,05	0,22 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,12 ± 0,02* <sup>(#)AC</sup> <b>p = 0,0536</b>	0,32 ± 0,03* <sup>#</sup>	0,29 ± 0,03 <sup>#</sup>
ГВК	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,12 ± 0,01**	0,09 ± 0,01	0,06 ± 0,01 <sup>#</sup>	0,09 ± 0,01
ГВК/дофамин	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,08 ± 0,01*	0,06 ± 0,01 <sup>#AC</sup>	0,04 ± 0,01 <sup>#</sup>	0,07 ± 0,01
5-ГТ	0,61 ± 0,05	0,67 ± 0,05	0,61 ± 0,03	0,71 ± 0,06	0,51 ± 0,04 <sup>#</sup>	0,57 ± 0,05
5-ГИУК	0,16 ± 0,03	0,23 ± 0,04	0,19 ± 0,04	0,16 ± 0,04	0,25 ± 0,03	0,25 ± 0,01
5-ГИУК/5-ГТ	0,29 ± 0,07	0,36 ± 0,07	0,31 ± 0,07	0,23 ± 0,05	0,50 ± 0,06 <sup>(*)</sup> <b>p = 0,0542</b>	0,47 ± 0,07 <sup>#</sup>

*Примечание:* \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , <sup>(\*)</sup> $p = 0,0542$  — отличия от соответствующего показателя, измеренного у ложнооперированных животных; <sup>#</sup> $p < 0,05$ , <sup>#</sup> $p < 0,01$  — достоверные различия результатов выключения коры полушария, ипсилатерального и контралатерального по отношению к стороне измеряемого параметра; <sup>#AC</sup> $p < 0,05$ , <sup>##AC</sup> $p < 0,01$ , <sup>(#)AC</sup> $p = 0,0536$  — проявления асимметрии (различия между соответствующими показателями левой и правой стороны мозга) по  $t$ -критерию Стьюдента. Обозначения см. в примечании к табл. 1.

*Note:* \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , <sup>(\*)</sup> $p = 0.0542$ , differences from the corresponding index measured in sham-operated animals; <sup>#</sup> $p < 0.05$ , <sup>#</sup> $p < 0.01$ , reliable differences between the results of the cortical silencing of the hemisphere, ipsilateral and contralateral to the side of the measured parameter; <sup>#AC</sup> $p < 0.05$ , <sup>##AC</sup> $p < 0.01$ , <sup>(#)AC</sup> $p = 0.0536$ , asymmetry signs (differences between the corresponding indices of the left and right sides of the brain) according to Student's  $t$ -criterion.

(левом) обонятельном бугорке. Таким образом, ВЛП и ВПП вызывали диаметрально противоположные изменения в контралатеральном обонятельном бугорке: соотношение ДОФУК/ДА справа при ВЛП оказывалось достоверно ниже данного показателя слева при ВПП ( $p < 0,01$ ). Кроме описанного эффекта, при ВПП в левом обонятельном бугорке увеличивалось содержание ДОФУК ( $p < 0,05$ ) и соотношение 5-ГИУК/5-ГТ ( $p = 0,0542$ ) — данные изменения наблюдались исключительно при правостороннем воздействии (см. табл. 3).

В стриатуме при унилатеральной инактивации одного из полушарий увеличивалось содержание ГВК на стороне воздействия ( $p < 0,001$  — при ВЛП и  $p < 0,05$  — при ВПП, табл. 4). Указанные изменения сопровождалось появлением асимметрии с более высоким уровнем ГВК в стриатуме на стороне «выключенной» коры ( $p < 0,05$ ). В данном случае эффекты ВЛП и ВПП были зеркально симметричными. Остальные последствия унилатеральной инактивации коры были специфичны для стороны воздействия. При ВЛП в стриатуме возникала асимметрия с преобладанием ДА с левой стороны ( $p < 0,05$ ) и ДОФУК/ДА — с правой ( $p < 0,05$ ), а при ВПП соотношение ГВК/ДА справа оказывалось больше, чем слева ( $p < 0,01$ , см. табл. 4).

## ОБСУЖДЕНИЕ

У белых беспородных мышей при ВЛП изменялись девять показателей: четыре — на стороне воздействия и 5 — на противоположной, а при ВПП изменялись семь показателей: три — на стороне воздействия и четыре — на противоположной (табл. 5). При этом единственным результатом, проявившимся билатерально, было уменьшение содержания НА в гиппокампе при ВЛП. Все остальные эффекты были унилатеральными. Среди обнаруженных изменений следует специально отметить те, которые проявлялись зеркально симметрично независимо от того, какое именно полушарие — правое или левое — было выключено. Ипсилатеральные зеркально симметричные эффекты включали снижение уровня НА в гиппокампе, повышение уровня ГВК в обонятельном бугорке и стриатуме, а также возрастание соотношения ГВК/ДА в обонятельном бугорке. Кроме того, как при ВЛП, так и при ВПП увеличивалось содержание ДА в контралатеральном гиппокампе.

Важно подчеркнуть, что на соотношение ДОФУК/ДА в контралатеральном обонятельном бугорке выключение коры левого и правого полушария оказывало противоположное воздействие: при ВЛП данный показатель снижался, а при ВПП повышался. При ВПП в левом обонятельном бугорке возрастало соотношение не только ДОФУК/ДА, но и 5-ГИУК/5-ГТ. Поскольку образование ДОФУК и 5-ГИУК катализируется моноаминоксидазами, локализованными интранейронально [6], можно предположить, что у животных данной субпопуляции в условиях функционального ВЛП наблюдалась повышенная моноаминоксидазная активность в правом обонятельном бугорке.

Влияние функционального выключения коры одного из полушарий на показатели обмена моноаминов в контралатеральных структурах, по-видимому, отражает не только участие коры больших полушарий в регуляции секреции моноаминов, но и важную роль межполушарных взаимодействий в данном процессе. Обнаруженная специфика эффектов выключения коры левого и правого полушария может быть обусловлена асимметрией системы комиссуральных связей, характерной для белых беспородных мышей [7]. Проведенное нами ранее морфологическое исследование особенностей комиссуральных связей у белых беспородных мышей [7] свидетельствует в пользу лучшего развития комиссуральных волокон, обеспечивающих воздействие теменной коры правого полушария на симметричные области левого. Поскольку теменная кора у грызунов в основном активируется соматосенсорными стимулами [8], вероятно, кора правого полушария у белых беспородных мышей играет ведущую роль в регуляции соматической чувствительности. В наших экспериментах только функциональное ВПП вызывало у данной линии животных тенденцию к ипсилатеральному снижению уровня НА в коре ( $p = 0,0593$ , см. табл. 5), что косвенно подтверждает это предположение.

Обращает на себя внимание, что у при ВЛП уровень НА в гиппокампе снижался билатерально, а при ВПП — только справа (см. табл. 5). Это позволяет предположить, что комиссура гиппокама, которая осталась за рамками исследования [7], также асимметричная.

В связи с особенностями влияния унилатеральной инактивации коры одного из полушарий на моноаминергические системы дорсального и вентрального стриатума следует обсудить асимметрию позы, которая отмечена у всех белых беспородных мышей на фоне ВПП. Эта асимметрия наблюдалась у всех особей и состояла в «наклоне» головы относительно тела вправо, как это обычно происходит при повороте животного в правую сторону. При этом асимметрия позы не приводила к заметному изменению локомоторной активности животных, но, если побеспокоить животное, оно не двигалось по прямой, а совершало поворот направо. В ранних работах, посвященных связи асимметрии дофаминергической системы стриатума и двигательного поведения у крыс, описано вращение животных под действием амфетамина [9]. Такое поведение сопровождалось асимметрией уровня ДА в стриатуме: он был выше на стороне, противоположной предпочитаемому направлению вращения [9]. Однако, по нашим данным, у белых беспородных мышей унилатеральная инактивация коры вызывает в ипсилатеральном стриатуме повышение уровня ГВК. Поскольку катехол-О-метилтрансфераза, определяющая образование ГВК из ДА, локализована экстраклеточно [6], уровень ГВК можно считать показателем интенсивности синаптического выброса ДА. Таким образом, непосредственным результатом функционального выключения коры одного из полушарий, по-видимому, является усиление выброса ДА на стороне

**Таблица 4.** Влияние функционального выключения коры одного из полушарий на содержание моноаминов и их метаболитов в стриатуме у белых беспородных мышей**Table 4.** Effects of functional inactivation of the cortex of one of the hemispheres on monoamine content and their metabolites in the striatum in white outbred mice

Параметры	Группа животных (воздействие)					
	ложнооперированные		выключение коры левого полушария		выключение коры правого полушария	
По отношению к исследуемой стороне мозга	–		ипси-	контра-	контра-	ипси-
Сторона мозга	Левая	Правая	Левая	Правая	Левая	Правая
Норадреналин	0,09 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,10 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,12 ± 0,02
ДА	2,13 ± 0,39	2,19 ± 0,49	2,43 ± 0,32	1,45 ± 0,10 <sup>#AC</sup>	2,83 ± 0,45	3,36 ± 0,71 <sup>#</sup>
ДОФУК	0,66 ± 0,11	0,66 ± 0,08	0,58 ± 0,12	0,58 ± 0,06	0,78 ± 0,12	0,91 ± 0,13
ДОФУК/ДА	0,33 ± 0,04	0,37 ± 0,07	0,26 ± 0,06	0,39 ± 0,05 <sup>#AC</sup>	0,28 ± 0,03	0,35 ± 0,06
ГВК	0,16 ± 0,02	0,18 ± 0,02	0,29 ± 0,02 <sup>***</sup>	0,17 ± 0,02 <sup>#AC</sup>	0,16 ± 0,02 <sup>#</sup>	0,28 ± 0,04 <sup>#AC;#*</sup>
ГВК/ДА	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,11 ± 0,02	0,07 ± 0,01 <sup>#</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>#;#AC</sup>
5-ГТ	0,25 ± 0,03	0,25 ± 0,03	0,27 ± 0,03	0,27 ± 0,04	0,25 ± 0,03	0,30 ± 0,07
5-ГИУК	0,30 ± 0,03	0,31 ± 0,04	0,32 ± 0,04	0,29 ± 0,02	0,31 ± 0,03	0,35 ± 0,04
5-ГИУК/5-ГТ	1,31 ± 0,21	1,33 ± 0,23	1,19 ± 0,11	1,15 ± 0,14	1,33 ± 0,18	1,24 ± 0,20

*Примечание:* \* $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,001$  — отличия от соответствующего показателя, измеренного у ложнооперированных животных; <sup>#</sup> $p < 0,05$ , <sup>##</sup> $p < 0,01$  — достоверные различия результатов выключения коры полушария, ипсилатерального и контралатерального по отношению к стороне измеряемого параметра; <sup>#AC</sup> $p < 0,05$ , <sup>##AC</sup> $p < 0,01$  — проявления асимметрии (различия между соответствующими показателями левой и правой стороны мозга) по  $t$ -критерию Стьюдента.

Обозначения см. в примечании к табл. 1.

*Note:* \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$ , differences from the corresponding index measured in sham-operated animals; <sup>#</sup> $p < 0.05$ , <sup>##</sup> $p < 0.01$ , reliable differences between the results of the cortical silencing of the hemisphere, ipsilateral and contralateral to the side of the measured parameter; <sup>#AC</sup> $p < 0.05$ , <sup>##AC</sup> $p < 0.01$ , asymmetry signs (differences between the corresponding indices of the left and right sides of the brain) according to Student's  $t$ -criterion. See Table 1 note for designations.

**Таблица 5.** Статистически достоверные изменения показателей моноаминергических систем в симметричных структурах переднего мозга белых беспородных мышей после функционального выключения коры левого и правого полушария**Table 5.** Statistically significant changes in monoamine metabolism in symmetrical forebrain areas in white outbred mice after functional inactivation of the left hemisphere and the right hemisphere cortex

Параметры	Воздействие			
	левое полушарие		правое полушарие	
Сторона мозга	Левая	Правая	Левая	Правая
Кора больших полушарий	–	↑ДА ↑ГВК	–	↓НА ( $p = 0,0593$ )
Гиппокамп	↓НА	↓НА ↑ДА	↑ДА	↓НА ↑5-ГИУК/5-ГТ
Обонятельный бугорок	↑ГВК ↑ГВК/ДА	↓ДОФУК/ДА	↑ДОФУК ↑ДОФУК/ДА ↑5-ГИУК/5-ГТ	
Стриатум	↑ГВК	–	–	↑ГВК

*Примечание:* зеркально симметричные эффекты выделены жирным курсивом, противоположные изменения соотношения ДОФУК/ДА в контралатеральном обонятельном бугорке — курсивом. Обозначения см. в примечании к табл. 1.

*Note:* Bold italics, mirror-symmetric effects; italics, opposite changes in the DOPAC/DA ratio in the contralateral olfactory tubercle.

See Table 1 note for designations.

инактивированной коры. Содержание ДА уменьшается, скорее всего, вследствие повышенного высвобождения (и, следовательно, экстраклеточного метаболизма) данного медиатора и не имеет самостоятельного значения.

Необходимо отметить, что у беспородных мышей ипсилатеральное повышение уровня ГВК в стриатуме и соответствующая асимметрия проявлялись при функциональном выключении коры любого полушария. Однако познавая

асимметрия сопровождала только ВПП, при котором выброс ДА возрастал только в стриатуме, но не в обонятельном бугорке (компоненте вентрального стриатума). Можно заключить, что функциональное выключение коры любого полушария приводит к повышению выброса ДА в стриатуме, но это само по себе еще не является необходимым условием проявления двигательной стереотипии. И, вопреки классическим представлениям [9, 10], проявлению поздней асимметрии способствует не столько асимметрия выброса ДА в подкорковых образованиях, сколько дисбаланс между нигростриатной и мезолимбической системами на одной из сторон мозга [11, 12]. В данном случае поворот тела вправо был вызван повышением активности правой нигростриатной системы без соответствующих изменений в правой мезолимбической системе. Сбалансированное увеличение выброса ДА в структурах вентрального и дорсального стриатума, даже если оно происходит унилатерально, не приводит к поздней асимметрии.

## ВЫВОДЫ

1. Врожденная асимметрия комиссуральных связей, свойственная белым беспородным мышам [7], сказывается на проявлении влияния унилатеральной инактивации коры на обмен моноаминов в структурах переднего мозга. ВПП вызывает ипсилатеральное снижение уровня НА в гиппокампе и увеличение выброса ДА в обонятельном бугорке и стриатуме. Комплекс моноаминергических эффектов ВПП не включает соответствующих изменений в обонятельном бугорке.

2. Асимметрия позы в форме «поворота» вправо, свойственная всем белым беспородным мышам с «выключенной» корой правого полушария, вызвана не унилатеральным увеличением выброса ДА в подкорковых структурах, а нарушением баланса между активностью нигростриатной и мезолимбической системами на стороне инактивированного полушария.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Егоров А.Ю. *Нейропсихология девиантного поведения*. Санкт-Петербург: Речь, 2006. 223 с.
- Изнак А.Ф., Тиганов А.С., Изнак Е.В., Сорокин С.А. ЭЭГ-корреляты и возможные предикторы эффективности терапии эндогенной депрессии // *Физиология человека*. 2013. Т. 39, № 4. С. 49–57. EDN: QIPNAX doi: 10.7868/S0131164613040061
- Leão A.A.P. Spreading depression of activity in the cerebral cortex // *J Neurophysiol*. 1944. Vol. 7, N. 6. P. 359–390. doi: 10.1152/jn.1944.7.6.359
- Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. *Методика и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*. Москва: Высшая школа, 1991. 399 с.
- Михеев В.В., Шабанов П.Д. *Фармакологическая асимметрия мозга*. Санкт-Петербург: Элби-СПб, 2007. 384 с.
- Stahl S.M. *Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical application*. 4th edit. Cambridge: Cambridge University Press, 2013. 608 p.
- Карпова И.В., Попковский Н.А., Прошин С.Н., и др. Морфологические различия комиссуральных связей переднего мозга у белых беспородных мышей и мышей линии BALB/C // *Медицинский академический журнал*. 2021. Т. 21, № 2. С. 99–105. EDN: NPGTVJ doi: 10.17816/MAJ71636
- Краснощекова Е.И. *Модульная организация нервных центров*. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ, 2007. 130 с.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Вклад каждого автора: И.В. Карпова, В.В. Михеев, Е.В. Бычков — написание статьи, анализ данных; И.В. Карпова, П.Д. Шабанов — разработка общей концепции.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено в рамках государственного задания Минобрнауки России FGWG-2024-0015 «Нейробиологические механизмы патогенеза социально значимых заболеваний и посттравматических расстройств. Подходы к моделированию патологических процессов и коррекции нарушений».

**Этический комитет.** Протокол исследования был одобрен этическим комитетом Института экспериментальной медицины протокол № 2/23 от 15.06.2023.

## ADDITIONAL INFORMATION

**The contribution of the authors.** All authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study. The contribution of each author: I.V. Karpova, V.V. Mikheev, E.R. Bychkov — manuscript drafting, writing and pilot data analyses; I.V. Karpova, P.D. Shabanov — general concept discussion.

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no competing interests.

**The source of financing.** The work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Education and Science of Russia FGWG-2024-0015 “Neurobiological mechanisms of the pathogenesis of socially significant diseases and post-traumatic disorders. Approaches to modeling pathological processes and correcting disorders”.

**Ethics approval.** The present study protocol was approved by the Ethics Committee of the Institute of Experimental Medicine Protocol No. 2/23 of 06.05.2023.

9. Glick S.D., Ross D.A. Right-sided population bias and lateralization of activity in normal rats // *Brain Res.* 1981. Vol. 205, N. 1. P. 222–225. doi: 10.1016/0006-8993(81)90737-x
10. Molochnikov I., Cohen D. Hemispheric differences in the mesostriatal dopaminergic system // *Front Syst Neurosci.* 2014. Vol. 8. ID 110. doi: 10.3389/fnsys.2014.00110
11. Карпова И.В., Михеев В.В., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. Изменение обмена моноаминов в головном мозге при унилатеральной корковой распространяющейся депрес-

сии у мышей BALB/c // *Психофармакология и биологическая наркология.* 2023. Т. 14, № 4. С. 221–228. EDN: HKIWDD doi: 10.17816/phbn568613

12. Карпова И.В., Бычков Е.Р., Лебедев А.А., Шабанов П.Д. Моноаминергические эффекты унилатеральной блокады орексиновых рецепторов (OX1R) в структурах расширенной миндалины на фоне системного действия психостимулятора // *Психофармакология и биологическая наркология.* 2023. Т. 14, № 1. С. 49–62. EDN: VIUURH doi: 10.17816/phbn321621

## REFERENCES

- Egorov AY. *Neuropsychology of deviant behaviour.* Saint Petersburg: Speech, 2006. 223 p. (In Russ.)
- Iznak AF, Tiganov AS, Iznak EV, Sorokin SA. EEG correlates and possible predictors of the efficacy of the treatment of endogenous depression. *Human Physiology.* 2013;39(4):49–57. EDN: QIPHAX doi: 10.7868/S0131164613040061
- Leão AAP. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J Neurophysiol.* 1944;7(6):359–390. doi: 10.1152/jn.1944.7.6.359
- Buresh Ya, Bureshova O, Houston DP. *Methodology and basic experiments on the study of brain and behaviour.* Moscow: Vysshaya shkola; 1991. 399 p. (In Russ.)
- Mikheev BB, Shabanov PD. *Pharmacological asymmetry of the brain.* Saint Petersburg: Elby-SPb, 2007. 384 p. (In Russ.)
- Stahl SM. *Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical application. 4th edit.* Cambridge: Cambridge University Press, 2013. 608 p.
- Karpova IV, Popkovsky NA, Proshin SN, et al. Morphological differences in the commissural connections of the forebrain in white outbred mice and BALB/C mice. *Medical academic journal.* 2021;21(2):99–105. EDN: NPGTVJ doi: 10.17816/MAJ71636
- Krasnoshchekova EI. *Modular organisation of nerve centres.* Saint Petersburg: SPbSU Publ., 2007. 130 p. (In Russ.)
- Glick SD, Ross DA. Right-sided population bias and lateralization of activity in normal rats. *Brain Res.* 1981;205(1):222–225. doi: 10.1016/0006-8993(81)90737-x
- Molochnikov I, Cohen D. Hemispheric differences in the mesostriatal dopaminergic system. *Front Syst Neurosci.* 2014;8:110. doi: 10.3389/fnsys.2014.00110
- Karpova IV, Mikheev VV, Bychkov ER, Shabanov PD. Changes in monoamine metabolism in the brain during unilateral cortical spreading depression in BALB/c mice. *Psychopharmacology and biological narcology.* 2023;14(4):221–228. doi: 10.17816/phbn568613
- Karpova IV, Bychkov ER, Lebedev AA, Shabanov PD. Monoaminergic effects of the unilateral blockade of orexin receptors (OX1R) in the enlarged amygdala under psychostimulant action. *Psychopharmacology and biological narcology.* 2023;14(1):49–62. EDN: VIUURH doi: 10.17816/phbn321621

## ОБ АВТОРАХ

**\*Инеcса Владимировна Карпова**, д-р биол. наук, доцент; адрес: ул. Академика Павлова, д. 12, Санкт-Петербург, 197022, Россия; ORCID: 0000-0001-8725-8095; eLibrary SPIN: 9874-4082; e-mail: inessa.karpova@gmail.com

**Владимир Владимирович Михеев**, д-р биол. наук; e-mail: vmikheev58@gmail.com

**Евгений Рудольфович Бычков**, д-р мед. наук; ORCID: 0000-0002-8911-6805; eLibrary SPIN: 9408-0799; e-mail: bychkov@mail.ru

**Петр Дмитриевич Шабанов**, д-р мед. наук, профессор; ORCID: 0000-0003-1464-1127; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru

## AUTHORS INFO

**\*Inessa V. Karpova**, Dr. Biol. Sci. (Physiology, Pharmacology), Assistant Professor; address: 12 Akademika Pavlova str., St. Petersburg, 197022, Russia; ORCID: 0000-0001-8725-8095; eLibrary SPIN: 9874-4082; e-mail: inessa.karpova@gmail.com

**Vladimir V. Mikheev**, Dr. Sci. (Biology, Pharmacology); e-mail: vmikheev58@gmail.com

**Evgenii R. Bychkov**, Dr. Sci. (Medicine, Pharmacology); ORCID: 0000-0002-8911-6805; eLibrary SPIN: 9408-0799; e-mail: bychkov@mail.ru

**Petr D. Shabanov**, MD, Dr. Sci. (Medicine, Pharmacology), Professor; ORCID: 0000-0003-1464-1127; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn626415>

# Morphological changes in the hippocampus of the rat brain in ischemia and in conditions of combined preconditioning

Vasiliy E. Novikov, Olga S. Levchenkova, Yulia S. Korneva

Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Preconditioning is effective for increasing the body's resistance to hypoxia/ischemia.

**AIM:** To evaluate morphological changes in the most hypoxia-sensitive fields of the hippocampus CA1 and CA3 in cerebral ischemia in rats and under conditions of combined preconditioning.

**MATERIALS AND METHODS:** Cerebral ischemia was simulated in rats under anesthesia (8% chloral hydrate solution, 400 mg/kg) by bilateral ligation of the common carotid arteries. The combined preconditioning method included the alternate use of two preconditional factors: pharmacological (amtisol, 25 mg/kg) and hypoxic (hypobaric hypoxia, 410 mmHg; exposure time, 60 min). Morphometric assessment of brain damage was performed a day after modeling ischemia in the CA1 and CA3 fields of the hippocampus.

**RESULTS:** Combined preconditioning has a positive effect on the morphometric parameters of the brain during ischemia, including increasing neuronal survival in the early and late periods of ischemia modeling, preventing the formation of necrotically and apoptotically altered neurons, hyperactivation of microglial cells, and contributing to endotheliocyte preservation.

**CONCLUSIONS:** Combined preconditioning (amtisol + hypobaric hypoxia) has a neuroprotective effect in cerebral ischemia.

**Keywords:** amtisol; preconditioning; cerebral ischemia; hippocampus.

## To cite this article

Novikov VE, Levchenkova OS, Korneva YuS. Morphological changes in the hippocampus of the rat brain in ischemia and in conditions of combined preconditioning. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2024;15(2):117–126. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn626415>

Received: 03.02.2024

Accepted: 10.03.2024

Published online: 12.04.2024

УДК 615.015:616-005.4

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn626415>

# Морфологические изменения в гиппокампе головного мозга крыс при ишемии и в условиях комбинированного прекондиционирования

В.Е. Новиков, О.С. Левченкова, Ю.С. Корнева

Смоленский государственный медицинский университет, Смоленск, Россия

## АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** Прекондиционирование — эффективный метод повышения устойчивости организма к гипоксии/ишемии. **Цель** — оценка морфологических изменений в наиболее чувствительных к гипоксии полях гиппокампа СА1 и СА3 при ишемии головного мозга у крыс и в условиях комбинированного прекондиционирования.

**Материалы и методы.** У крыс моделировали ишемию головного мозга под наркозом (8 % раствор хлоралгидрата в дозе 400 мг/кг) путем двусторонней перевязки общих сонных артерий. Метод комбинированного прекондиционирования включал поочередное применение двух прекондиционных факторов — фармакологического (амтизол в дозе 25 мг/кг) и гипоксического (гипобарическая гипоксия, 410 мм рт. ст., время экспозиции — 60 мин). Морфометрическую оценку повреждения головного мозга проводили через сутки после моделирования ишемии в полях гиппокампа СА1 и СА3.

**Результаты.** Комбинированное прекондиционирование положительно влияет на морфометрические показатели мозга при его ишемии, увеличивая выживаемость нейронов в ранний и поздний периоды моделирования ишемии, препятствуя образованию некротически и апоптотически измененных нейронов, гиперактивации клеток микроглии и способствуя сохранению эндотелиоцитов.

**Заключение.** Комбинированное прекондиционирование (амтизол + гипобарическая гипоксия) оказывает нейропротекторное действие при ишемии головного мозга.

**Ключевые слова:** амтизол; прекондиционирование; ишемия головного мозга; гиппокамп.

## Как цитировать

Новиков В.Е., Левченкова О.С., Корнева Ю.С. Морфологические изменения в гиппокампе головного мозга крыс при ишемии и в условиях комбинированного прекондиционирования // Психофармакология и биологическая наркология. 2024. Т. 15, № 2. С. 117–126. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn626415>

## BACKGROUND

Over the past decades, cerebral ischemia is a leading cause of mortality and disability worldwide [1]. Preconditioning is an effective way to increase the body's tolerance to hypoxia/ischemia, including cerebral ischemia. It mobilizes the body's physiological reserves under the influence of preconditioning, such as short-term and repeated sublethal ischemia or hypoxia [2, 3]. Preconditioning can be induced by drugs from several pharmacological classes [4–8]. Nevertheless, pharmacological preconditioning is less effective than physical methods regarding the extent of protective effect [9]. Conversely, pharmacological agents can be used to enhance the impact of physical methods of preconditioning, thereby reducing the effect of physical factors [8–10]. Experimental studies demonstrated that the combination of pQ-4 compound with moderate hypobaric hypoxia significantly increased the survival rate of rats with cerebral ischemia and reduced neurological deficits in the postischemic period [11].

This study aimed to assess morphological changes in the most hypoxia-sensitive hippocampal CA1 and CA3 regions during brain ischemia in rats and under conditions of ischemia modeling following combined pharmacological–hypoxic preconditioning.

## MATERIALS AND METHODS

The study included 38 white Wistar rats (Scientific Center for Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency, Stolbovaya, Russia) weighing 200–230 g. The studies were conducted in accordance with the Rules of Laboratory Practice (Order of the Ministry of Health of Russia no. 199n, dated April 1, 2016).

Combined preconditioning (CPreC) involved the alternate application of two preconditioning factors: pharmacological and hypoxic. On experiment days 1, 3, and 5, the animals were intraperitoneally injected with amtsol at 25 mg/kg. On days 2, 4, and 6, rats were subjected to moderate hypobaric hypoxia (410 mmHg; exposure time: 60 min) [11, 12]. Following the final session of CPreC, the rats were subjected to a model of cerebral ischemia under anesthesia (8% chloral hydrate solution at 400 mg/kg) through bilateral ligation of the common carotid arteries. The experimental animals were divided into four groups: 1 control group with ischemia, two experimental groups of CPreC with ischemia (CPreC Isch), one hour after preconditioning (CPreC Isch after one hour), and 48 hours after preconditioning (CPreC Isch after 48 hours).

The degree of brain damage was assessed 1 day after surgery using morphometry. The brain was fixed in 10% neutral buffered formalin. Brain slices 5- $\mu$ m-thick ( $3.8 \pm 0.2$  mm posterior to the bregma [13]) were prepared after standard pouring in paraffin and stained with hematoxylin and eosin and toluidine blue according to the Nissl method. The

number of neurons in the hippocampal CA1 and CA3 fields was quantified in 10 non-overlapping fields of view at  $\times 400$  magnification (Carl Zeiss, Germany). The following cell types were counted: normal (unchanged), reversibly damaged (hypochromic), and irreversibly damaged neurons (apoptotic, hyperchromic) and necrotic cells (shadow cells). Additionally, microglia cells and endotheliocytes were counted.

The results were statistically analyzed using the Stat Plus Pro 7.0.1.0 program. The Mann–Whitney ( $U$ ) test was employed to identify differences between the studied indicators in the compared two independent samples. When comparing a larger number of independent samples, the Kruskal–Wallis rank analysis of variance ( $H$ -criterion) was used ( $p \leq 0.05$ ). Descriptive statistics by groups are presented as median and percentiles ( $Q_1$ ;  $Q_3$ ).

## RESULTS

A morphometric study of the hippocampus of rats with ischemia revealed pronounced, widespread pathomorphologic changes 1 day after surgery compared to falsely operated animals. In animals with ischemia, pyramidal neurons in the hippocampal CA1 and CA3 fields exhibited absence of normal morphology, in contrast to the presence of damaged neurons ( $H = 15.41$ ;  $p = 0.002$  and  $H = 21.68$ ;  $p < 0.001$ , respectively, for the fields), which were predominantly necrotic (Table 1, Fig. 1).

The number of hypochromic neurons was significantly lower in the CA1 field than in the group of falsely operated animals ( $U = 14$ ;  $p = 0.032$ ). However, no significant difference was observed in the number of hypochromic neurons in the CA3 field ( $U = 32$ ;  $p = 0.116$ ). Most neurons exhibited morphological alterations. Consequently, the number of hyperchromic neurons was significantly higher in both hippocampal fields under study compared to the falsely operated group ( $U = 45.5$ ;  $p = 0.042$  for CA1 and  $U = 6.5$ ;  $p = 0.038$  for CA3). Additionally, shade cells were significantly increased compared to the falsely operated group in CA1 ( $U = 56$ ;  $p = 0.001$ ) and CA3 ( $U = 0$ ;  $p = 0.002$ ) fields. Normal macroglia cells in controls with ischemia were significantly fewer compared to the falsely operated controls in the CA1 ( $U = 7.5$ ;  $p = 0.017$ ) and CA3 ( $U = 37$ ;  $p = 0.022$ ) fields. Concurrently, no significant differences were found in the number of dystrophically altered macroglia cells in the CA1 ( $U = 18$ ;  $p = 0.247$ ) and CA3 ( $U = 27$ ;  $p = 0.391$ ) fields. The number of microglia cells, which are particularly reactive in ischemic brain injury, increased in the CA1 ( $U = 44$ ;  $p = 0.05$ ) and CA3 ( $U = 4.5$ ;  $p = 0.018$ ) fields compared to the group of falsely operated animals. One day after ischemia, the number of endothelial cells was lower than in the group of falsely operated rats in the hippocampal CA1 field ( $U = 10$ ;  $p = 0.037$ ), but not in the hippocampal CA3 field ( $U = 31$ ;  $p = 0.153$ ).

When ischemia was simulated 1 hour (early period) and 48 hours (late period) after CPreC with amtsol (CPreC–Amt),

positive morphological changes were noted in hippocampal CA1 and CA3 fields compared to ischemic controls (Table 1, Fig. 2).

A comparison of four independent samples, namely, the group of falsely operated animals, control with ischemia, and two experimental groups of CPreC-Amt, revealed a difference in the number of normal neurons (the Kruskal–Wallis rank  $H$ -criterion was used to compare the results between the groups;  $H = 87.4$ ;  $df = 3$ ;  $p < 0.001$ ). The greatest number of normal neurons in the hippocampal CA1 field was observed in the group of falsely operated animals, followed by the late preconditioning period (CPreC-Amt Isch group after 48 hours) and then the early preconditioning period (CPreC-Amt Isch group after 1 hour), with the least number found in the control group with ischemia. In the hippocampal CA3 field, similar significant differences in the number of normal neurons were observed between the studied groups ( $H = 54.7$ ;  $df = 3$ ;  $p < 0.001$ ). A pairwise comparison of the number of preserved normal neurons between groups (Mann–Whitney  $U$ -criterion was used) showed that preserved normal neurons were significantly increased in the CA3 field than in the control with ischemia ( $U = 41.5$ ;  $p = 0.03$ ). The Mann–Whitney  $U$ -criterion test presented no significant differences in the number of preserved normal neurons between the CA1 field and CPreC-Amt Isch after 1

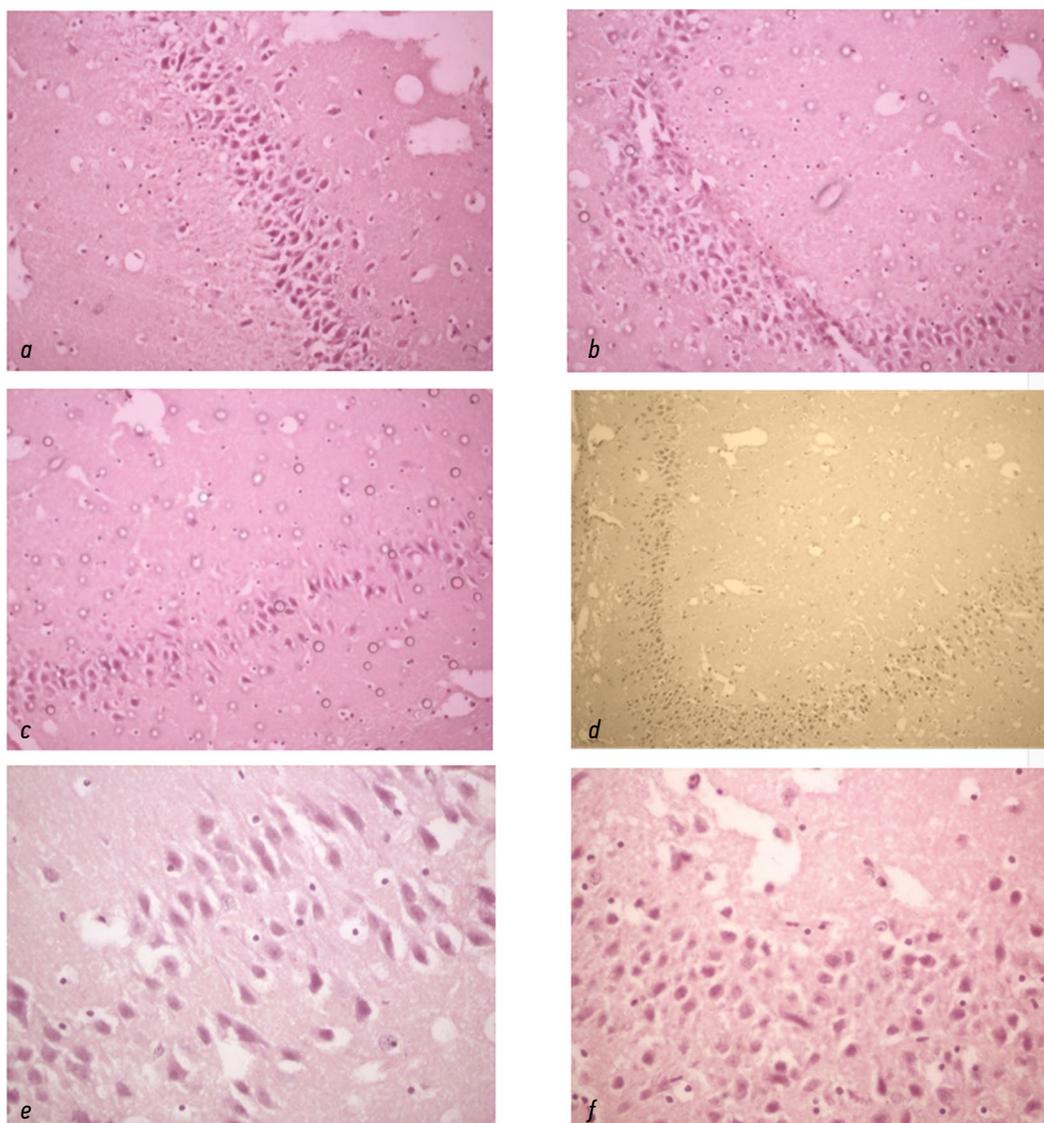
hour ( $U = 5.0$ ;  $p = 0.012$ ) or CPreC-Amt Isch after 48 hours ( $U = 0$ ;  $p = 0.012$ ).

A significant difference was observed in the number of hypochromic neurons in the hippocampal CA1 field between the studied groups ( $H = 15.7$ ;  $df = 3$ ;  $p = 0.014$ ). The most reversibly damaged hypochromic neurons were identified in the CPreC-Amt Isch group after 48 hours, followed by the CPreC-Amt Isch group after 1 hour, then the falsely operated animals, and finally the control group with ischemia. In the hippocampal CA3 field, the greatest number of hypochromic neurons were observed in the CPreC-Amt Isch group after 48 hours, followed by the CPreC-Amt Isch group after 1 hour, and then in the falsely operated rats group. The number of hypochromic neurons was minimal in the control group with ischemia ( $H = 25.7$ ;  $df = 3$ ;  $p < 0.001$ ). In pairwise comparisons, a relatively high number of hypochromic neurons was observed in the CPreC-Amt Isch group than in controls with ischemia. This was noted for both the CA1 and CA3 fields after 1 hour ( $U = 34.5$ ;  $p = 0.05$  and  $U = 38.0$ ;  $p = 0.015$ , respectively). The number of hypochromic neurons was significantly higher in the CPreC-Amt Isch group than in the control group in the CA1 and CA3 fields after 48 hours ( $U = 4.0$ ;  $p = 0.008$  and  $U = 6.0$ ;  $p = 0.018$ , respectively). No significant differences were observed between the experimental groups of CPreC

**Table 1.** Morphometric changes in the hippocampus during cerebral ischemia and under preconditioning

Hippocampal field	Cells	Animal groups			
		Falsely operated	Ischemia	Preconditioning with amitsol + ischemia	
				Early period	Late period
CA1	NN	19 (15,3; 28,6)	0 (0; 0)*	0 (0; 3,5)*	3 (0; 4)*
	HN	8,2 (5,8; 12,7)	1 (0; 11)*	15,7 (12,6; 24,5)#	29 (22,7; 35)#
	HRN	1,2 (0,3; 2,2)	16,5 (7,5; 18,5)*	2,2 (2; 2,8)#	0 (0; 0,2)#+
	SCs	2 (1,6; 2,1)	20 (18,2; 28,2)*	15,8 (6; 18,0)*	14 (10,7; 14,5)#
	NMG	17,5 (12,8; 26)	6 (1; 12)*	15 (12; 15)	9,5 (8; 11,5)*
	DAM	6,5 (4,7; 7,3)	3 (0,5; 8,2)	7,8 (6,3; 8,8)	7,5 (5,5; 8,0)
	McG	3,5 (2,3; 4)	12,5 (4; 20)*	3,8 (3,5; 4)	5,5 (4,5; 10)
	EC	11 (7,8; 14,1)	6 (3,7; 6,5)*	15 (12; 15,4)#	17 (13; 19)#
CA3	NN	23,7 (20; 26,2)	0 (0; 0,5)*	7,5 (3,3; 9,7)*#	8,5 (3,2; 26,5)#
	HN	5,0 (4,2; 8,3)	0 (0; 4,2)	11,2 (8,7; 13,3)*#	13,5 (3,5; 30,5)#
	HRN	2 (0,6; 3,3)	15 (11,2; 16,5)*	1,5 (0,6; 2)#	2 (1; 3)#
	SCs	0 (0; 2,6)	27 (26,5; 28,5)*	8 (6,2; 13,5)*#	8 (4,7; 10,5)*#
	NMG	14,7 (11; 15,8)	6 (2,5; 8,7)*	11,2 (10,2; 11,8)#	8 (6,2; 14,7)
	DAM	5,2 (4,2; 5,8)	4,5 (2; 5,5)	8 (6,2; 9,7)*#	7 (4,2; 8)
	McG	2,5 (1,6; 3)	12 (7,7; 22,5)*	5,5 (5; 8,2)*	5,5 (4,7; 7)*#
	EC	7,2 (5,8; 10,1)	6 (4; 7)	14 (10,2; 17)*#	13 (12; 15,5)*#

*Note:* \*, indices [median ( $Q_1$ ;  $Q_3$ )] are significantly different from the sham-operated group (control); #, from the control group with ischemia; +, from the group of combined preconditioning with amitsol in the early period at  $p < 0.05$ ; Mann–Whitney  $U$ -criterion. NN, normal neurons; HRN, hyperchromic neurons; HN, hypochromic neurons; SCs, shadow cells; NMG, normal macroglia; DAM, dystrophically altered macroglia; McG, microglia; EC, endotheliocyte.



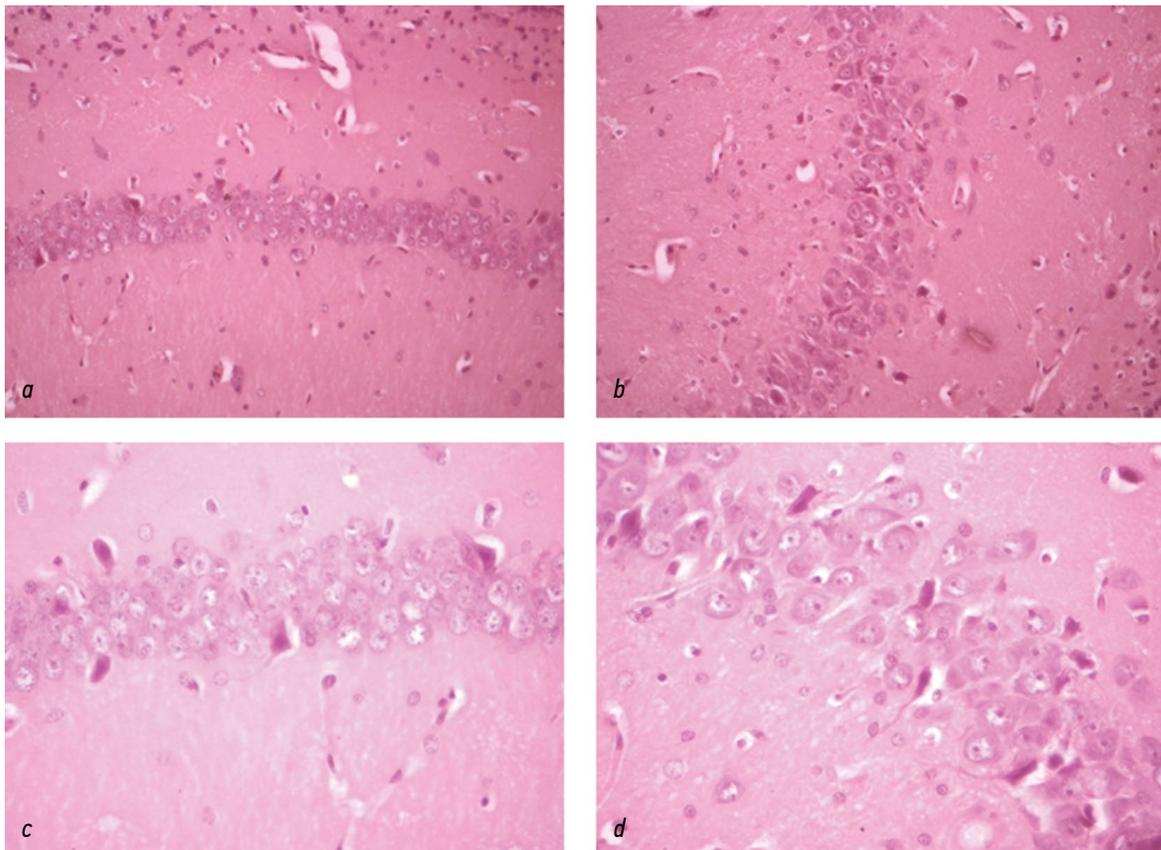
**Fig. 1.** Zones CA1 (*a, c, e*) and CA3 (*b, d, f*) fields of the hippocampus of the rat brain with simulated ischemia. The histoarchitecture is unclear, cellularity is sharply reduced, pronounced pericellular edema, foci of destruction in the brain tissue. *e, f*: in both zones, there are no normal neurons, and almost all neurons are hyperchromatic, wrinkled, reduced in size, lacking processes; single sharply swollen macroglial cells are detected; capillaries are not detected; maximum number of microglial cells. Hematoxylin–eosin staining. Magnification for *a, b, c*  $\times 200$ , for *d*  $\times 100$ , for *e, f*  $\times 400$

with amitol ( $U = 28$ ;  $p = 0.317$  for CA1 and  $U = 21$ ;  $p = 0.715$  for CA3).

The number of hyperchromic neurons in the hippocampal fields CA1 and CA3 exhibited significant differences between the studied groups ( $H = 33.1$  and  $H = 30.1$ , respectively, for CA1 and CA3;  $df = 3$ ;  $p < 0.001$ ). Considerable apoptotic hyperchromic neurons were observed during ischemia, followed by the CPreC–Amt Isch group 1 hour after ischemia onset, then by the group of falsely operated animals, and finally by the CPreC–Amt Isch group 48 hours after ischemia onset. A pairwise comparison found that the number of hyperchromic neurons was significantly lower in the CPreC–Amt Isch group after 1 hour in the CA3 field ( $U = 0.5$ ;  $p = 0.003$ ) than in the control group with ischemia.

This was further observed after 48 hours in both fields ( $U = 44.0$ ;  $p = 0.004$  for CA3). The results indicated that the protective effect against neuronal apoptosis in the CPreC–Amt Isch group was greater when CPreC–Amt was used 48 hours before surgery ( $U = 40.5$ ;  $p = 0.005$  for the CA1 field) compared to after 1 hour ( $U = 0.5$ ;  $p = 0.003$  for the CA3 field).

The number of shade cells in the hippocampal CA1 field significantly differed between the studied groups ( $H = 67.3$ ;  $df = 3$ ;  $p < 0.001$ ). The control group with ischemia exhibited the highest number of cells, followed by the CPreC–Amt Isch group after 1 hour, CPreC–Amt Isch group after 48 hours, and falsely operated animals group, which exhibited the lowest number of cells. The same ranking was observed



**Fig. 2.** Zones CA1 (*a, c*) and CA3 (*b, d*) of the hippocampus of the rat brain (combined preconditioning with amitizol, early period). The histoarchitecture can be traced, the cellularity is relatively preserved, and there is pronounced perivascular and, in some places, pericellular edema. Both zones: single normal neurons are found (more in the CA3 field); hyperchromic neurons are present. CA1 field: shadow cells and hypochromic neurons are detected; macroglia are partially preserved; capillaries are identified, but their endothelium is absent in places; single microglial cells appear. Hematoxylin–eosin staining. Magnification for *a, b*  $\times 200$ , for *c, d*  $\times 400$

for the CA3 field regarding the number of shade cells in the studied groups ( $H = 69.2$ ;  $df = 3$ ;  $p < 0.001$ ). The highest number of cells were observed in the control group with ischemia, followed by the CPreC–Amt Isch group after 1 hour, and then the CPreC–Amt Isch group after 48 hours, and the lowest number was observed in the falsely operated (control) group. In pairwise comparisons, the number of necrotic neuron-shadow cells was lower in the CPreC–Amt Isch group after 1 hour than in the control group with ischemia only in the CA3 field ( $U = 2.0$ ;  $p = 0.006$ ). After 48 hours, it was lower in the CPreC–Amt Isch group in both hippocampal fields ( $U = 44.0$ ;  $p = 0.012$  for CA1 and  $U = 48.5$ ;  $p = 0.002$  for CA3).

A significant difference was observed in the number of normal macroglia cells in the hippocampal CA1 field between the studied groups ( $H = 33.5$ ;  $df = 3$ ;  $p < 0.001$ ). The falsely operated animals exhibited the highest preservation level, followed by the CPreC–Amt Isch group after 1 hour, then the CPreC–Amt Isch group after 48 hours, and finally the ischemic animals, which exhibited the lowest preservation level. In the hippocampal CA3 field, the number of unaltered macroglia cells was significantly different between groups ( $H = 12.2$ ;  $df = 3$ ;  $p = 0.007$ ). It was better preserved in

the false-operated group (control), then in the CPreC–Amt Isch group after 1 hour, and in the CPreC–Amt Isch group after 48 hours. The group with ischemia exhibited the least preservation. A pairwise comparison of the number of normal macroglia cells between groups showed a significant difference only for the CPreC–Amt Isch group after 1 hour when compared to the control group with ischemia in the hippocampal CA3 field ( $U = 37$ ;  $p = 0.022$ ). When dystrophically altered macroglia cells were identified, no significant differences were found in the studied groups in both the CA1 ( $H = 5.4$ ;  $df = 3$ ;  $p = 0.142$ ) and CA3 ( $H = 11.3$ ;  $df = 3$ ;  $p = 0.103$ ) fields.

A significant difference was noted in the number of microglia cells in both hippocampal fields between the studied groups ( $H = 17.4$ ;  $df = 3$ ;  $p = 0.006$  for CA1 and  $H = 29.8$ ;  $df = 3$ ;  $p < 0.001$  for CA3). The highest number of microglia cells was observed in rats in the control group with ischemia and the lowest number in the CPreC–Amt Isch group after 48 hours. Furthermore, the number of microglia cells was lowest in the falsely operated animals. A pairwise comparison of the number of microglia cells revealed that the number of microglia cells in the experimental group of CPreC–Amt Isch after 1 hour was not statistically different

from the number of microglia cells in the group of falsely operated animals ( $U = 29.5$ ;  $p = 0.477$ ). However, it was not significantly less compared to the control. The number of microglia cells in the hippocampal field CA1 was greater for the group with ischemia ( $U = 12.5$ ;  $p = 0.224$ ) than for the falsely operated animals group ( $U = 4$ ;  $p = 0.024$ ), but not significantly different from that of the control group with ischemia ( $U = 11$ ;  $p = 0.153$ ). The number of microglia cells was significantly lower in the CPreC-Amt Isch experimental group than in controls with ischemia for the hippocampal field CA3 ( $U = 21$ ;  $p = 0.03$ ) after 48 hours. However, no such changes were found for the hippocampal field CA1 ( $U = 18.5$ ;  $p = 0.443$ ).

A significant difference was observed in the number of endothelial cells in the hippocampal fields CA1 and CA3 between the groups ( $H = 31$ ;  $df = 3$ ;  $p < 0.001$  for CA1 and  $H = 34.2$ ;  $df = 3$ ;  $p < 0.001$  CA3). The greatest number of endothelial cells was observed in the CPreC-Amt Isch rats after 48 hours, followed by the CPreC-Amt Isch group after 1 hour, then the falsely operated animals, and finally the control group with ischemia, which exhibited the lowest number of endothelial cells and highest mortality. The number of endotheliocytes in the CA1 field was significantly higher in the experimental group CPreC-Amt Isch than in the control with ischemia ( $U = 4.5$ ;  $p = 0.018$ ). In the CA3 field, there were more endothelial cells than in the control group with ischemia ( $U = 2$ ;  $p = 0.006$ ) and in the falsely operated animals ( $U = 6$ ;  $p = 0.045$ ). Similar results were obtained for the experimental group CPreC-Amt Isch after 48 hours. In the hippocampal field CA1, the number of endothelial cells was significantly higher in comparison with the control group that underwent ischemia ( $U = 0$ ;  $p = 0.001$ ). Similarly, in field CA3, the number of endothelial cells was significantly higher in comparison with the control group that underwent ischemia ( $U = 0$ ;  $p = 0.001$ ) and the falsely operated animals ( $U = 6$ ;  $p = 0.032$ ).

Consequently, CPreC (amtisol in combination with moderate hypobaric hypoxia) positively affects morphometric indices in the hippocampal fields CA1 and CA3 of the rat brain following modeling of ischemia. The results indicate that CPreC with amtisol induces a neuroprotective effect, increasing neuronal survival in the early and late periods of ischemia modeling. This prevents the formation of necrotically and apoptotically altered neurons and hyperactivation of microglia cells and promotes endothelial cell preservation. Regarding the impact of CPreC on morphometric indices in ischemia, it is crucial to highlight the reduction in microglial hyperactivation, given that microglial activation is a key pathogenic mechanism in brain damage. This is accompanied by structural and functional remodeling of mitochondria, a shift toward glycolytic ATP production, and an increase in reactive oxygen species production [14–16].

The positive effect of preconditioning factors on morphometric indices of the brain during ischemia is fully consistent with our earlier results of the effect of this

method of CPreC on the survival rate of animals in hypoxia/ischemia, functional activity of the central nervous system and neurological deficit, and pro-/antioxidant status and activity of bioenergetic processes in mitochondria of the brain [10, 17–21].

## CONCLUSIONS

A day after modeling of cerebral ischemia in rats, significant neurodegenerative changes of diffuse nature with neuronal death in brain regions highly sensitive to ischemia, namely, pyramidal neurons of hippocampal fields CA1 and CA3, occur, combined with a decrease in the number of normal macroglia, endotheliocytes, and reactive activation of microglia. The variability of the results between the hippocampal CA1 and CA3 fields may be due to the fact that different hippocampal fields are differentially sensitive to the action of ischemia.

In the initial preconditioning phase (ischemia modeling 1 hour after CPreC), the number of surviving normal neurons in the hippocampus increased, particularly in the CA3 field. Hypochromic (reversible damage) neurons were more prevalent than in the control group. Normal macroglia cells showed superior survival rates, and fewer dystrophically altered macroglia cells were observed. The number of microglia cells was found to be lower than in the control group, indicating less hippocampal cell damage. Additionally, the number of endotheliocytes in both hippocampal fields was preserved. Similar changes were observed in the late period of CPreC with amtisol (modeling of ischemia after 48 hours), and in a number of cellular indices, late CPreC demonstrated greater efficacy than early CPreC.

The results of morphometric study of the hippocampus indicate that combined pharmacological–hypoxic preconditioning (amtisol + hypobaric hypoxia) induces a neuroprotective effect in cerebral ischemia.

## ADDITIONAL INFORMATION

**Authors contribution.** Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study. O.S. Levchenkova, Yu.S. Korneva — manuscript drafting, writing and pilot data analyses; V.E. Novikov — paper reconceptualization and general concept discussion.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

О.С. Левченкова, Ю.С. Корнева — написание статьи, анализ данных; В.Е. Новиков — рецензирование статьи, разработка общей концепции.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

## REFERENCES

- Campbell BC. Stroke. *Lancet*. 2020;396(10244):129–142. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31179-X
- Novikov VE, Levchenkova OS, Pozhilova EV. Preconditioning as a method of metabolic adaptation to hypoxia and ischemia. *Vestnik of the Smolensk State Medical Academy*. 2018;17(1):69–79. EDN: YXHXP
- Hao Y, Xin M, Feng L, et al. Review cerebral ischemic tolerance and preconditioning: methods, mechanisms, clinical applications, and challenges. *Front Neurol*. 2020;11:812. doi: 10.3389/fneur.2020.00812
- Zenko MYu, Rybnikova EA. Pharmacological preconditioning. *Integrative physiology*. 2020;1(1):32–39. EDN: CDEKPO doi: 10.33910/2687-1270-2020-1-1-32-39
- Levchenkova OS, Kulagin KN, Novikov VE. Cerebroprotective action of pharmacological and hypoxic preconditioning in brain ischemia. *Vestnik of the Smolensk State Medical Academy*. 2017;16(2):15–21. EDN: YPCMX
- Levchenkova OS, Novikov VE. Possibilities of pharmacological preconditioning. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2016;71(1):16–24. EDN: VPLXBD doi: 10.15690/vramn626
- Novikov VE, Levchenkova OS. Perspectives of use of inducers of the hypoxia adaptation factor in therapy of ischemic diseases. *Journal of Ural medical academic science*. 2014;(5):132–138. EDN: TKZNBL
- Yang Y, Lu F, Huang L, et al. Combined preconditioning with hypoxia and GYKI-52466 protects rats from cerebral ischemic injury by HIF-1 $\alpha$ /eNOS pathway. *Am J Transl Res*. 2017;9(12):5308–5319.
- Novikov VE, Levchenkova OS, Klimkina EI, Kulagin KN. Potentiation of the hypoxic preconditioning effect by antihypoxants. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2019;17(1):37–44. EDN: PHNAKT doi: 10.7816/RCF17137-44
- Levchenkova OS, Novikov VE, Kulagin KN, Ponamareva NS. Influence of combined pharmacological and hypoxic preconditioning on animal survival and functional activity of CNS during model cerebral ischemia. *Experimental and clinical pharmacology*. 2016;79(6):3–8. EDN: WCOGFF doi: 10.30906/0869-2092-2016-79-6-3-8
- Levchenkova OS, Novikov VE, Parfenov EA, Kulagin KN. Neuroprotective effect of antioxidants and moderate hypoxia as combined preconditioning in cerebral ischemia. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2016;162(8):173–177. EDN: WHHGMP
- Novikov VE, Levchenkova OS. Erythropoietin and vascular endothelial growth factor level in normoxia and in cerebral ischemia under pharmacological and hypoxic preconditioning. *Biomedical chemistry*. 2020;(4):339–344. EDN: XDXCGU doi: 10.18097/PBMC2020664339
- Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Hard Cover Edition: Academic Press, 2007. 456 p.
- Novikov VE, Sharov AN. Effect of GABAergic agents on oxidative phosphorylation in brain mitochondria in traumatic brain oedema. *Pharmacology and toxicology*. 1991;54(6):44–46. (In Russ.)
- Pozhilova EV, Novikov VE, Levchenkova OS. Reactive oxygen species in cell physiology and pathology. *Vestnik of the Smolensk State Medical Academy*. 2015;14(2):13–22. EDN: UHOVFR
- Novikov VE, Ponamaryova NS, Shabanov PD. *Aminothiols antihypoxants in traumatic brain oedema*. Saint Petersburg: Elby-SPb; 2008. 176 p. (In Russ.)
- Novikov VE, Kulagin KN, Levchenkova OS, Ponamareva NS. Influence of preconditioning by amtzol and moderate hypoxia on brain mitochondrial function under experimental normoxia/cerebral ischemia conditions. *Experimental and clinical pharmacology*. 2019;82(12):3–8. EDN: WDPYUW doi: 10.30906/0869-2092-2019-82-12-3-8
- Novikov VE, Levchenkova OS, Pozhilova EV. Pharmacological preconditioning: opportunities and prospects. *Vestnik of the Smolensk State Medical Academy*. 2020;19(2):36–49. EDN: OMTYRF doi: 10.37903/vsgma.2020.2.6
- Novikov VE, Pozhilova EV. Pharmacological neuroprotection in cerebrovascular insufficiency: Possible approaches. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2024;15(1):23–32. EDN: ZZEGEE doi: 10.17816/phbn626125
- Evseev AV, Mosin OA, Evseeva MA, et al. Antihypoxic effect of almid-containing metal-complex compounds in the experiment. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2024;15(1):53–60. EDN: EAKJEE doi: 10.17816/phbn626030
- Levchenkova OS, Novikov VE, Vorobyova VV, Kulagin KN. Activity of ROS-induced processes in the combined preconditioning with amtzol before and after cerebral ischemia in rats. *Res Results Pharmacol*. 2021;7(2):49–57. doi: 10.3897/rpharmacology7.66808

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Campbell B.C. Stroke // *Lancet*. 2020. Vol. 396, N 10244. P. 129–142. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31179-X
2. Новиков В.Е., Левченкова О.С., Пожилова Е.В. Преко́ндициони́рование как способ метаболической адаптации организма к состояниям гипоксии и ишемии // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2018. Т. 17, № 1. С. 69–79. EDN: YXHXP
3. Hao Y., Xin M., Feng L., et al. Review cerebral ischemic tolerance and preconditioning: methods, mechanisms, clinical applications, and challenges // *Front Neurol*. 2020. Vol. 11. ID 812. doi: 10.3389/fneur.2020.00812
4. Зенько М.Ю., Рыбникова Е.А. Фармакологическое преко́ндициони́рование // *Интегративная физиология*. 2020. Т. 1, № 1. С. 32–39. EDN: CDEKPO doi: 10.33910/2687-1270-2020-1-1-32-39
5. Левченкова О.С., Кулагин К.Н., Новиков В.Е. Церебропротективное действие фармакологического преко́ндициони́рования при ишемии головного мозга // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2017. Т. 16, № 2. С. 15–21. EDN: YPCMXH
6. Левченкова О.С., Новиков В.Е. Возможности фармакологического преко́ндициони́рования // *Вестник РАМН*. 2016. Т. 71, № 1. С. 16–24. EDN: VPLXBD doi: 10.15690/vramn626
7. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Перспективы применения индукторов фактора адаптации к гипоксии в терапии ишемических заболеваний // *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2014. № 5. С. 132–138. EDN: TKZNB
8. Yang Y., Lu F., Huang L., et al. Combined preconditioning with hypoxia and GYKI-52466 protects rats from cerebral ischemic injury by HIF-1 $\alpha$ /eNOS pathway // *Am J Transl Res*. 2017. Vol. 9, N 12. P. 5308–5319.
9. Новиков В.Е., Левченкова О.С., Климкина Е.И., Кулагин К.Н. Потенцирование антигипоксантами эффекта гипоксического преко́ндициони́рования // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2019. Т. 17, № 1. С. 37–44. EDN: PHNAKT doi: 10.7816/RCF17137-44
10. Левченкова О.С., Новиков В.Е., Кулагин К.Н., Понамарева Н.С. Влияние комбинированного фармакологического и гипоксического преко́ндициони́рования на выживаемость животных и функциональную активность ЦНС при ишемии головного мозга // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2016. Т. 79, № 6. С. 3–8. EDN: WCOGFF doi: 10.30906/0869-2092-2016-79-6-3-8
11. Левченкова О.С., Новиков В.Е., Парфенов Э.А., Кулагин К.Н. Нейропротективное действие антиоксидантов и умеренной гипоксии в режиме комбинированного преко́ндициони́рования при ишемии головного мозга // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016. Т. 162, № 8. С. 173–177. EDN: WHHGMP
12. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Содержание эритропозина и фактора роста эндотелия сосудов в условиях нормоксии и при ишемии головного мозга под действием фармакологического и гипоксического преко́ндициони́рования // *Биомедицинская химия*. 2020. Т. 66, № 4. С. 339–344. EDN: XDXXGU doi: 10.18097/PBMC2020664339
13. Paxinos G., Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Hard Cover Edition: Academic Press, 2007. 456 p.
14. Новиков В.Е., Шаров А.Н. Влияние ГАМК-эргических средств на окислительное фосфорилирование в митохондриях мозга при его травматическом отеке // *Фармакология и токсикология*. 1991. Т. 54, № 6. С. 44–46.
15. Пожилова Е.В., Новиков В.Е., Левченкова О.С. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2015. Т. 14, № 2. С. 13–22. EDN: UHOVFR
16. Новиков В.Е., Понамарёва Н.С., Шабанов П.Д. Аминотиоловые антигипоксанта́ны при травматическом отеке мозга. Санкт-Петербург: Элби-СПб, 2008. 176 с.
17. Новиков В.Е., Кулагин К.Н., Левченкова О.С., Понамарева Н.С. Влияние амтизола и умеренной гипоксии в режиме преко́ндициони́рования на функцию митохондрий мозга в условиях нормоксии и ишемии головного мозга в эксперименте // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2019. Т. 82, № 12. С. 3–8. EDN: WDPYUW doi: 10.30906/0869-2092-2019-82-12-3-8
18. Новиков В.Е., Левченкова О.С., Пожилова Е.В. Фармакологическое преко́ндициони́рование: возможности и перспективы // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2020. Т. 19, № 2. С. 36–49. EDN: OMTYRF doi: 10.37903/vsgma.2020:2.6
19. Новиков В.Е., Пожилова Е.В. Фармакологическая нейропротекция при цереброваскулярной недостаточности: возможные подходы // *Психофармакология и биологическая наркологи́я*. 2024. Т. 15, № 1. С. 23–32. EDN: ZZESEE doi: 10.17816/phbn626125
20. Евсеев А.В., Мосин О.А., Евсеева М.А., и др. Противогипоксический эффект алмидсодержащих металлокомплексных соединений в эксперименте // *Психофармакология и биологическая наркологи́я*. 2024. Т. 15, № 1. С. 53–60. EDN: EAKJEE doi: 10.17816/phbn626030
21. Levchenkova O.S., Novikov V.E., Vorobyova V.V., Kulagin K.N. Activity of ROS-induced processes in the combined preconditioning with amtizol before and after cerebral ischemia in rats // *Res Results Pharmacol*. 2021. Vol. 7, N 2. P. 49–57. doi: 10.3897/rrpharmacology7.66808

## AUTHORS INFO

**\*Vasiliy E. Novikov**, Dr. Sci. (Medicine), Professor;  
Smolensk State Medical Academy, Krupskaya St., 28,  
Smolensk, 214019, Russia  
ORCID: 0000-0002-0953-7993; eLibrary SPIN: 1685-1028;  
e-mail: nau@sgmu.info

**Olga S. Levchenkova**, MD, Dr. Sci. (Medicine), Assistant Professor;  
ORCID: 0000-0002-9595-6982;  
eLibrary SPIN: 2888-6150; e-mail: os.levchenkova@gmail.com

**Julia S. Korneva**, MD, Cand. Sci. (Medicine), Assistant Professor;  
ORCID: 0000-0002-8080-904X; eLibrary SPIN: 5169-7740;  
e-mail: nau@sgmu.info

## ОБ АВТОРАХ

**\*Василий Егорович Новиков**, д-р мед. наук, профессор;  
Смоленская государственная медицинская академия  
Минздрава РФ. 214019, Смоленск, ул. Крупской, д. 28  
ORCID: 0000-0002-0953-7993; eLibrary SPIN: 1685-1028;  
e-mail: nau@sgmu.info

**Ольга Сергеевна Левченкова**, д-р. мед. наук, доцент;  
ORCID: 0000-0002-9595-6982; eLibrary SPIN: 2888-6150;  
e-mail: os.levchenkova@gmail.com

**Юлия Сергеевна Корнева**, канд. мед. наук, доцент;  
ORCID: 0000-0002-8080-904X; eLibrary SPIN: 5169-7740;  
e-mail: nau@sgmu.info

---

\* Corresponding author / Автор, ответственный за переписку

УДК 612.82

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn627411>

# Седативный эффект U-49900 (3,4-дихлор-N-(2-(диэтиламино)циклогексил)-N-метил-бензамида) на взрослых рыбах зебраданио

Т.О. Колесникова<sup>1,2</sup>, В.А. Шевырин<sup>2</sup>, С.Л. Хацко<sup>2</sup>, А.В. Калуев<sup>1,3</sup><sup>1</sup> Научно-технологический университет «Сириус», пгт Сириус, Россия;<sup>2</sup> Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия;<sup>3</sup> Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

## АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** U-49900 — химический аналог селективного агониста  $\mu$ -опиоидных рецепторов U-47700 с выраженными психоактивными свойствами. Несмотря на рост злоупотреблений синтетическими опиоидами, в том числе U-47700 и U-49900, психофармакологический профиль последнего изучен мало. Костная рыба зебраданио (*zebrafish*, *Danio rerio*) представляет перспективный акватический модельный организм в нейробиологии и широко используется для психофармакологического анализа свойств нейротропных препаратов.

**Цель** — оценить эффекты U-49900 на поведение взрослых зебраданио в тесте «нового аквариума».

**Материалы и методы.** Оценивали действие соединения U-49900 в концентрациях 1, 5, 10 и 25 мг/л (инкубация в течение 20 мин) на поведение взрослых зебраданио в тесте «нового аквариума». U-49900 — 3,4-дихлор-N-(2-(диэтиламино)циклогексил)-N-метилбензамид, аналог синтетического опиоида U-47700, вызывает у человека абстиненцию.

**Результаты и обсуждение.** В концентрации 25 мг/л U-49900 уменьшает пройденную дистанцию и количество выходов в верхнюю часть аквариума в тесте «нового аквариума» ( $p < 0,001$  по сравнению с контрольной группой), но не изменяет другие параметры в тесте. Данный профиль согласуется с выраженным седативным действием препарата.

**Заключение.** В целом чувствительность зебраданио к U-49900 предполагает возможность разработки высокопроизводительных платформ для скрининга препаратов и их мишеней с целью поиска эффективной терапии патологических состояний, вызванных синтетическими опиоидами.

**Ключевые слова:** зебраданио; U-49900; синтетические опиоиды; поведение; седативный эффект.

## Как цитировать

Колесникова Т.О., Шевырин В.А., Хацко С.Л., Калуев А.В. Седативный эффект U-49900 (3,4-дихлор-N-(2-(диэтиламино)циклогексил)-N-метил-бензамида) на взрослых рыбах зебраданио // Психофармакология и биологическая наркология. 2024. Т. 15, № 2. С. 127–134. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn627411>

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn627411>

# Sedative effect of U-49900 (3,4-dichloro-N-(2-(diethylamino)cyclohexyl)-N-methyl-benzamide) in adult Zebrafish

Tatiana O. Kolesnikova<sup>1,2</sup>, Vadim A. Shevyrin<sup>2</sup>, Sergei L. Khatsko<sup>2</sup>, Allan V. Kalueff<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Sirius University of Science and Technology, Sirius, Russia;

<sup>2</sup> Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia;

<sup>3</sup> Almazov National Medical Research Center, Saint Petersburg, Russia

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** U-49900 is a chemical analog of U-47700. Despite the growing abuse of synthetic opioids, including U-49900, its psychopharmacological and toxicological profiles remain poorly understood. The zebrafish (*Danio rerio*) is a promising model organism in neuroscience often used for the psychopharmacological evaluation of neurotropic drugs.

**OBJECTIVE:** To evaluate the effects of U-49900 on the behavior of adult zebrafish in a new tank.

**MATERIALS AND METHODS:** The effect of the test compound U-49900 at 1, 5, 10, and 25 mg/L concentrations (incubation for 20 minutes) on the behavior of adult zebrafish was assessed using the “new aquarium” test. U-49900 is 3,4-dichloro-N-(2-(diethylamino)cyclohexyl)-N-methylbenzamide and is considered an analog of the synthetic opioid U-47700, causing withdrawal in humans.

**RESULTS:** The psychopharmacological profile of U-49900 at 1, 5, 10, and 25 mg/l concentrations (water immersion) in adult zebrafish was evaluated with the novel tank test. U-49900 at 25 mg/l for 20 min reduced the distance traveled and number of top entries in the novel tank test ( $p < 0.001$  vs. control group), but unaltered other parameters.

**CONCLUSIONS:** Overall, the sensitivity of zebrafish to synthetic non-fentanyl opioids such as U-49900 indicates the possibility of developing high-throughput screening platforms for finding effective therapies for pathological conditions caused by synthetic opioids.

**Keywords:** zebrafish; U-49900; synthetic opioids; behavior; sedative effect.

## To cite this article

Kolesnikova TO, Shevyrin VA, Khatsko SL, Kalueff AV. Sedative effect of U-49900 (3,4-dichloro-N-(2-(diethylamino)cyclohexyl)-N-methyl-benzamide) in adult Zebrafish. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2024;15(2):127–134. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn627411>

## ОБОСНОВАНИЕ

Опиоиды, в том числе нефентаниловые циклогексилбензамиды, часто употребляемые наркотические вещества [1]. Препарат 3,4-дихлор-N-(2-(диэтиламино)циклогексил)-N-метилбензамид (U-49900) (рис.) представляет собой аналог синтетического опиоида U-47700, вызывает у человека абстиненцию и (при хроническом использовании) потерю вкуса, обоняния и осязания [2]. Данное соединение внесено в список сильнодействующих и наркотических средств во многих странах [3], включая США, Швецию, Испанию [2] и (с 2017 г.) Россию. Ввиду растущего злоупотребления опиатов в мире [1] их изучение становится важной биомедицинской задачей, в том числе в клинических и доклинических исследованиях. Однако, несмотря на данные об эффектах U-47700 у грызунов [2], сведения о действии его аналога U-49900 на животных моделях практически отсутствуют.

Наряду с грызунами, в доклиническом скрининге химических соединений широко используют рыбу зебранию (*zebrafish*, *Danio rerio*), ставшую незаменимым модельным объектом в биомедицине. Наряду с невысокой стоимостью, быстрым развитием, прозрачностью эмбрионов, морфологической, физиологической и генетической гомологией с человеком [4], а также чувствительностью к основным классам препаратов, зебранию также демонстрируют обучение [5], социальность [6] и сложное поведение [7]. В силу отсутствия данных о нейротропных эффектах U-49900 цель настоящего исследования состояла в изучении его воздействия при остром введении на поведение и двигательную активность взрослых рыб зебранию.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализ взаимосвязи структуры и активности имеет ключевое значение для прогнозирования биологических свойств химических соединений в базе данных PASSOnline, которая с точностью более 96 % предсказывает фармакологические профили лекарств, механизм действия, взаимодействия мишеней и побочные/токсические эффекты на основе библиотеки более 1 млн биологически активных веществ [8]. В работе проанализировано соединение U-49900 с использованием этого подхода для оценки рассчитанной вероятности (Pa) конкретных биологических активностей.

В исследовании использовано 83 зебранию аутбредной популяции короткоплавникового дикого типа обоего пола в возрасте 4–6 мес., полученные от местного поставщика (Zootrade, Inc., Екатеринбург). Рыбы были акклиматизированы в течение не менее двух недель до начала экспериментов и содержались группами по 40 особей в 40-литровых аквариумах, заполненных чистой фильтрованной водой (температура —  $25 \pm 1$  °C, pH 7,4). Освещение (950–960 люкс) обеспечивали потолочными

светильниками, а световой день составлял 12 ч (09:00–21:00 [9]). Экспериментальных животных ранее не применяли в других экспериментах, кормили стандартным кормом (хлопьями TetraMin для аквариумных рыб) дважды в день. Выбор беспородной популяции дикого типа для настоящего исследования был основан на соображениях популяционной валидности и ее значимости для настоящего исследования. Хотя генетически контролируемые модели (например, инбредные линии рыб зебранию) могут быть более воспроизводимой и надежной системой для нейрогенетических исследований, моделирование нарушений центральной нервной системы на животных подразумевает воспроизведение «реальных» болезней мозга человека, затрагивающих генетически гетерогенные популяции. Таким образом, использование аутбредной линии рыб в данной работе обосновано с популяционной и трансляционной точек зрения.

Эксперименты проводили с 10:00 до 17:00 в тесте «нового аквариума», хорошо валидированном для анализа локомоторных и других поведенческих фенотипов зебранию [10]. Перед тестированием выполняли инкубацию рыб по 1 штуке в пластиковом стакане емкостью 0,5 л в течение 20 мин в растворе, содержащем U-49900 в разных концентрациях, разведенном в 0,1% диметилсульфоксиде (ДМСО), в данной концентрации не влияющем на поведение зебранию [11]. Контрольные рыбы подвергались действию раствора ДМСО без препарата. Вещество U-49900 (Россия) было получено от таможенной службы РФ в рамках исследовательских контрактов с Уральским федеральным университетом.

Экспериментальные животные случайным образом разделены на контрольную и экспериментальные группы: 1, 5, 10 и 25 мг/л ( $n = 16–19$  в группе). Концентрации определены на основе собственных пилотных экспериментов по тестированию широкого диапазона острых эффектов U-49900 на зебранию. Стандартная 20-минутная экспозиция выбрана на основе опыта работы с различными психотропными препаратами.

После инкубации с препаратом поведение рыб исследовали в тесте «нового аквариума», аппарат которого составлял прямоугольный резервуар объемом 1,5 л (15×20×5 см), заполненный водой и разделенный на две равные части виртуальной горизонтальной линией. Поведение рыб записывали на веб-камеру SJ4000 и полученные материалы обрабатывали в программе RealTimer (Open Science, Ltd., Красногорск, Россия). Оценивали количество, продолжительность (с) и латентный период эпизодов замирания (фризинга), латентный период (с) первого выхода в верхнюю часть аквариума, количество выходов вверх и их общую продолжительность (с), а также количество беспорядочных движений (хаотичные движения с высокой скоростью и ускорением, являющиеся маркером тревожного поведения) [12]. Фризинг определяли как полную неподвижность рыбы, за исключением движения жаберных крышек и глаз, более 2 с.

Для оценки уровня двигательной активности, общее пройденное расстояние (м), число и продолжительность состояний высокой подвижности подсчитывали с помощью программы Noldus Ethovision XT11 (Wageningen, Нидерланды). Траектории движения зебраданио были также построены в Ethovision XT11 и сохранены в формате JPEG для наглядной иллюстрации пространственных паттернов активности рыб. Полулетальную дозу ЛД<sub>50</sub> препарата определяли путем инкубации групп из 30 рыб в различных концентрациях в течение 24 ч.

Группы сравнивали в программе Statistica 10.0 с помощью непараметрического критерия Краскела – Уоллиса с последующим попарным сравнением рангов групп с применением теста Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Препарат U-49900 демонстрирует выраженную нейротропность в тесте «нового аквариума», статистически достоверно влияя на ряд параметров поведения зебраданио, которые отражают уровень их локомоторной активности (см. рис., табл. 1). В частности, в концентрации 25 мг/л U-49900 на 95,79 % уменьшилась частота выходов зебраданио в верхнюю часть аквариума без изменения продолжительности и латентного периода выхода, что свидетельствует о снижении уровня локомоции рыб после воздействия вещества. В концентрации 25 мг/л U-49900 наблюдалось также 75 % уменьшение общей пройденной дистанции по сравнению с контрольной группой, что подтверждает седативный профиль данного препарата. При этом не отмечено значимых различий в частоте отражающих тревожность беспорядочных движений и фризинга во всех группах (см. табл. 1). ЛД<sub>50</sub> для тестируемого препарата U-49900 составила 15 мг/л.

По сравнению с острым введением морфина, воздействие которого у зебраданио проявляется в поведенческой активности при концентрации 2 мг/л [13], острое введение U-49900 снижает активность рыб в концентрации 25 мг/л (см. рис.), подтверждая сравнительно более слабую активность последнего в центральной нервной системе у зебраданио. Более того, высокие концентрации морфина (10 и 30 мг/л) не влияют на локомоцию зебраданио [14], но в концентрации 25 мг/л U-49900 вызвал седацию в настоящем исследовании (см. рис.), вследствие чего можно предположить его большую эффективность в высоких дозах по сравнению с морфином.

Компьютерный анализ химической структуры U-49900 с использованием базы данных PASSOnline предсказал (табл. 2) с высокой вероятностью ( $P_a > 60\%$ ) анксиолитические свойства U-49900, что в целом согласуется с его седативным действием на зебраданио (см. табл. 1).

Несмотря на обнаружение выраженных нейротропных седативных эффектов U-49900 (см. рис., табл. 1), настоящее исследование имеет несколько ограничений. Например, не изучали потенциальное молекулярное, геномное и протеомное воздействие U-49900 на зебраданио, а также индивидуальные различия [15]. В будущем целесообразно оценить эффекты хронического воздействия U-49900 на рыбах, грызунах и человеке, а также сопоставить возможное привыкание и развитие синдрома отмены, особенно в контексте опиоидергических эффектов препарата. Целесообразен также систематический анализ нейрохимических и фармакокинетических процессов в мозге зебраданио (например, через 1, 2, 6, 12, 24 и 48 ч после воздействия) для низких, средних и высоких доз в будущих доклинических исследованиях U-49900.

Еще один фактор — возможная потенциальная острая неспецифическая токсичность U-49900. Например, в пилотных исследованиях U-49900 нами не выявлено токсичности при применении концентрации 25 мг/л, но показана летальность 80–100 % после однократного острого

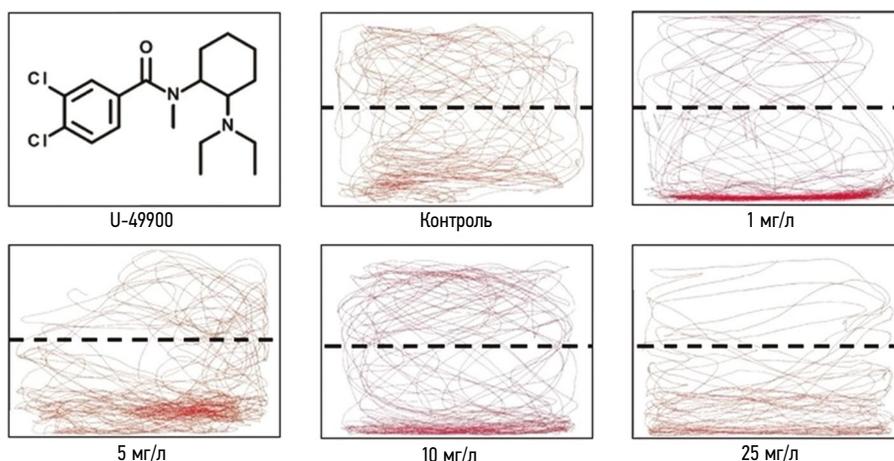


Рис. Влияние U-49900 на паттерны плавания рыб в тесте «новый аквариум»

Fig. Effect of U-49900 on fish swimming patterns in the new aquarium test

60-минутного воздействия в концентрации 50–100 мг/л (данные не приведены). Кроме того, после однократного острого 20-минутного введения 50–100 мг/л наблюдались выраженная атаксия и седативный эффект, а оцененная в настоящей работе ЛД<sub>50</sub> препарата составила 15 мг/л

при 24-часовой экспозиции. Таким образом, преобладание седативного эффекта при остром воздействии нарастающих доз U-49900 на зебраданию могло маскировать анксиолитические эффекты этого препарата. Однако, поскольку острые дозы морфина и других опиоидов в малых

**Таблица 1.** Влияние U-49900 на поведенческие реакции зебраданию в 5-минутном тесте «нового аквариума»

**Table 1.** Effect of U-49900 on the behavioral responses of zebrafish in the 5-minute new aquarium test

Показатель	Контроль (n = 16)	1 мг/л (n = 16)	5 мг/л (n = 16)	10 мг/л (n = 16)	25 мг/л (n = 15)	Значение критерия Краскела – Уоллиса H (4,79), p
<b>Параметры, подсчитанные с помощью программного обеспечения Ethovision XT</b>						
Пройденная дистанция, м	19,0 ± 1	17,0 ± 0,9	15,7 ± 0,9	15,0 ± 0,1	0,8 ± 0,1 <sup>*** # @A</sup>	37,5, p = 0,00001
<b>Параметры, подсчитанные с помощью программного обеспечения RealTimer</b>						
Частота выходов наверх	28,0 ± 4,6	19,0 ± 2,6	17,0 ± 2,8	17,0 ± 2,7	7,0 ± 1,6 <sup>***#A</sup>	23,3, p = 0,0001
Продолжительность выходов наверх, с	99,0 ± 10,8	77,0 ± 12,4	78,0 ± 16,6	78,0 ± 12,6	53,0 ± 17	7,8, p = 0,1
Общее количество хаотических движений	1,2 ± 0,8	1,1 ± 0,5	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,7	0,0 ± 0,0 <sup>##@</sup>	11,9, p = 0,02
Число актов фризинга	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,2	1,6 ± 0,6 <sup>#</sup>	21,2, p = 0,0003
Суммарная продолжительность фризинга, с	2,5 ± 2,5	2,2 ± 2,2	0,0 ± 0,0	23,0 ± 15,0	52,0 ± 22,0 <sup>#A</sup>	20,0, p = 0,0005
Латентный период выхода в верхнюю часть аквариума, с	47,0 ± 9,6	62,0 ± 14,3	58,0 ± 13,0	76,0 ± 13,4	50,0 ± 22,0	9,4, p = 0,05
Латентный период фризинга, с	282,0 ± 18,0	282 ± 17,6	300,0 ± 0,0	248,0 ± 28,3	143,0 ± 39,0 <sup>##@</sup>	22,2, p = 0,0002

*Примечание:* <sup>\*\*\*</sup>p < 0,001 против контроля, <sup>#</sup>p < 0,05 против группы 1 мг/л, <sup>##</sup>p < 0,01 против группы 1 мг/л, <sup>@</sup>p < 0,05 против группы 5 мг/л, <sup>A</sup>p < 0,05 против группы 10 мг/л, тест Краскела – Уоллиса с последующим тестом Манна – Уитни с поправкой Бонферрони для попарного сравнения групп. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего.

*Note:* <sup>\*\*\*</sup>p < 0.001 vs control; <sup>#</sup>p < 0.05 vs 1 mg/L group; <sup>##</sup>p < 0.01 vs 1 mg/L group; <sup>@</sup>p < 0.05 vs 5 mg/L group; <sup>A</sup>p < 0.05 vs 10 mg/L group; the Kruskal–Wallis test followed by the Mann–Whitney test with Bonferroni correction for pairwise comparison of groups. Data are presented as mean ± standard error of the mean.

**Таблица 2.** Вероятность биологической активности (Pa) препарата U-49900, рассчитанная с помощью базы данных PASSOnline (www.way2drug.com/passonline/)

**Table 2.** Probabilities of biological activity (Pa) of the drug U-49900, calculated using the PASSOnline database (www.way2drug.com/passonline/)

Pa	Биологическая активность
0,910	Антифобическое действие
0,890	Ингибитор тауриндегидрогеназы
0,826	Ингибитор НАДФН-пероксидазы
0,771	Ингибитор гликозилфосфатидилинозитол фосфолипазы D
0,783	Ингибитор убихинол-цитохром-с-редуктазы
0,735	Ингибитор фосфолипид-транслоцирующей АТФазы
0,707	Ингибитор L-глутаматоксидазы
0,671	Ингибитор 5-O-(4-кумароил)-D-хинат-3'-монооксигеназы
0,631	Ингибитор (S)-6-гидроксинокотиноксидазы
0,613	Ингибитор сульфитоксидазы
0,587	Ингибитор камфор-1,2-монооксигеназы
0,592	Ингибитор белка, ассоциированного с центромерой
0,601	Анксиолитическое (противоневротическое) действие
0,538	Активатор кальциевых каналов

количества вызывают анксиолитические эффекты у людей [16], в дальнейшем нужна оценка более широкого диапазона низких доз этого вещества, чтобы оценить потенциальное анксиолитическое действие при однократном введении.

В целом седативный эффект U-49900 у взрослых зебраданио в концентрации 25 мг/л (см. рис., табл. 1) аналогичен эффектам U-47700, что позволяет предположить не только химическое, но и фармакологическое сходство данных синтетических опиоидов [17], для чего необходимы дальнейшие исследования данных препаратов. Способность U-49900 вызывать выраженные нейротропные седативные эффекты у зебраданио также согласуется с клиническими и доклиническими данными о синтетических препаратах, подчеркивая важность доклинического скрининга химических соединений на рыбах. Учитывая высокую консервативность мишеней для лекарств и сходство основных молекулярных сетей между рыбами, людьми и грызунами [18, 19], разработка скрининговых платформ на основе зебраданио может стать важной стратегией поиска путей терапии при состояниях, вызванных приемом синтетических препаратов [20].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, вещество U-49900 в концентрации 25 мг/л в течение 20 мин на 95,79 % уменьшает пройденную дистанцию и на 75 % количество выходов в верхнюю часть аквариума в тесте «нового аквариума» ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контрольной группой. Данный фенотип свидетельствует о седативном действии препарата на взрослых зебраданио. Препарат во всех исследуемых концентрациях не влиял на другие параметры в тесте «нового аквариума», но продемонстрировал ЛД<sub>50</sub> при концентрации 15 мг/л и 24-часовой инкубации. Проведенный *in silico* анализ U-49900 при помощи базы данных PASSOnline указывает на возможность анксиолитических

свойств препарата, что косвенно соответствует его обнаруженной седативности и требует дальнейшего исследования.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Т.О. Колесникова — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материалов, написание текста; В.А. Шевырин — анализ полученных данных, обзор литературы, внесение окончательной правки; С.Л. Хацко — сбор и обработка материалов, внесение окончательной правки; А.В. Калуев — концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, написание текста, внесение окончательных правок.

**Финансирование.** Исследование проведено при поддержке Научно-технологического университета «Сириус», проект № NRB-RND-2116.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

## ADDITIONAL INFORMATION

**Author contribution.** Thereby, all authors confirm that their authorship complies with the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept, research, and preparation of the article, as well as read and approved the final version before its publication). T.O. Kolesnikova — concept and design of the study, collection and processing of materials, writing the text; V.A. Shevyrin — analysis of the obtained data, literature review, making final corrections; S.L. Khatsko — collecting and processing materials, making final edits; A.V. Kalueff — concept and design of the study, analysis of the data obtained, writing the text, making final edits.

**Funding source.** The study has been supported by Sirius University of Science and Technology, project № NRB-RND-2116.

**Conflict of interests.** No conflict of interests is declared.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Nutt D., King L.A., Saulsbury W., Blakemore C. Development of a rational scale to assess the harm of drugs of potential misuse // *Lancet*. 2007. Vol. 369, N 9566. P. 1047–1053. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60464-4
- Fabregat-Safont D., Carbón X., Ventura M., et al. Updating the list of known opioids through identification and characterization of the new opioid derivative 3, 4-dichloro-N-(2-(diethylamino) cyclohexyl)-N-methylbenzamide (U-49900) // *Sci Rep*. 2017. Vol. 7, N 1. ID 6338 doi: 10.1038/s41598-017-06778-9
- Krotulski A.J., Papsun D.M., Friscia M., et al. Fatality following ingestion of tetrahydrofuranlyfentanyl, U-49900 and methoxyphencyclidine // *J Anal Toxicol*. 2018. Vol. 42, N 3. P. e27–e32. doi: 10.1093/jat/bkx092
- Kalueff A.V., Echevarria D., Stewart A.M. Gaining translational momentum: more zebrafish models for neuroscience research // *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2014. Vol. 55. P. 1–6. doi: 10.1016/j.pnpbp.2014.01.022
- Gerlai R. Learning and memory in zebrafish (*Danio rerio*) // *Methods Cell Biolol*. 2016. Vol. 134. P. 551–586. doi: 10.1016/bs.mcb.2016.02.005
- Gerlai R. Social behavior of zebrafish: from synthetic images to biological mechanisms of shoaling // *J Neurosci Methods*. 2014. Vol. 234. P. 59–65. doi: 10.1016/j.jneumeth.2014.04.028
- Jesuthasan S. Fear, anxiety, and control in the zebrafish // *Dev Neurobiol*. 2012. Vol. 72, N 3. P. 395–403. doi: 10.1002/dneu.20873
- Filimonov D.A., Lagunin A.A., Glorizova T.A., et al. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the

PASS online web resource // *Chem Heterocycl Compd*. 2014. Vol. 50. P. 444–457. doi: 10.1007/s10593-014-1496-1

9. Westerfield M. *The zebrafish book: A guide for the laboratory use of zebrafish Danio (Brachydanio Rerio)*. 5th ed. University of Oregon, 2007.

10. Stewart A.M., Kalueff A.V. The behavioral effects of acute  $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol and heroin (diacetylmorphine) exposure in adult zebrafish // *Brain Res*. 2014. Vol. 1543. P. 109–119. doi: 10.1016/j.brainres.2013.11.002

11. Goldsmith P. Zebrafish as a pharmacological tool: the how, why and when // *Curr Opin Pharmacol*. 2004. Vol. 4, N 5. P. 504–512. doi: 10.1016/j.coph.2004.04.005

12. Kalueff A.V., Gebhardt M., Stewart A.M., et al. Towards a comprehensive catalog of zebrafish behavior 1.0 and beyond // *Zebrafish*. 2013. Vol. 10, N 1. P. 70–86. doi: 10.1089/zeb.2012.0861

13. Stewart A., Wu N., Cachat J., et al. Pharmacological modulation of anxiety-like phenotypes in adult zebrafish behavioral models // *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011. Vol. 35, N 6. P. 1421–1431. doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.11.035

14. Douglas A. *The dose-response relationship of morphine in a zebrafish (Danio rerio) model*. University of Prince Edward Island, 2012.

15. Volgin A.D., Yakovlev O.A., Demin K.A., et al. Zebrafish models for personalized psychiatry: Insights from individual,

strain and sex differences, and modeling gene x environment interactions // *J Neurosci Res*. 2019. Vol. 97, N 4. P. 402–413. doi: 10.1002/jnr.24337

16. Suzuki J., El-Haddad S. A review: fentanyl and non-pharmaceutical fentanyls // *Drug And Alcohol Dependence*. 2017. Vol. 171. P. 107–116. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2016.11.033

17. Bachour R.-L., Golovko O., Kellner M., Pohl J. Behavioral effects of citalopram, tramadol, and binary mixture in zebrafish (*Danio rerio*) larvae // *Chemosphere*. 2020. Vol. 238. ID 124587. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.124587

18. Stewart A.M., Ullmann J.F., Norton W.H.J., et al. Molecular psychiatry of zebrafish // *Mol Psychiatry*. 2015. Vol. 20, N 1. P. 2–17. doi: 10.1038/mp.2014.128

19. Галстян Д.С., Колесникова Т.О., Косицын Ю.М., и др. Оценка общей двигательной активности и тревожности зейбра-данию (*Danio rerio*) с использованием тестов незнакомого аквариума, открытого поля, черно-белого аквариума и построения косяка // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2022. Т. 20, № 2. С. 123–133. EDN: AKINGC doi: 10.17816/RCF202123-133

20. Alzghari S.K., Amin Z.M., Chau S., et al. On the horizon: the synthetic opioid U-49900 // *Cureus*. 2017. Vol. 9, N 9. ID e1679. doi: 10.7759/cureus.1679

## REFERENCES

- Nutt D, King LA, Saulsbury W, Blakemore C. Development of a rational scale to assess the harm of drugs of potential misuse. *Lancet*. 2007;369(9566):1047–1053. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60464-4
- Fabregat-Safont D, Carbón X, Ventura M, et al. Updating the list of known opioids through identification and characterization of the new opioid derivative 3, 4-dichloro-N-(2-(diethylamino)cyclohexyl)-N-methylbenzamide (U-49900). *Sci Rep*. 2017;7(1):6338. doi: 10.1038/s41598-017-06778-9
- Krotulski AJ, Papsun DM, Friscia M, et al. Fatality following ingestion of tetrahydrofuranlylfentanyl, U-49900 and methoxy-phencyclidine. *J Anal Toxicol*. 2018;42(3):e27–e32. doi: 10.1093/jat/bkx092
- Kalueff AV, Echevarria D, Stewart AM. Gaining translational momentum: more zebrafish models for neuroscience research. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2014;55:1–6. doi: 10.1016/j.pnpbp.2014.01.022
- Gerlai R. Learning and memory in zebrafish (*Danio rerio*). *Methods Cell Biolol*. 2016;134:551–586. doi: 10.1016/bs.mcb.2016.02.005
- Gerlai R. Social behavior of zebrafish: from synthetic images to biological mechanisms of shoaling. *J Neurosci Methods*. 2014;234:59–65. doi: 10.1016/j.jneumeth.2014.04.028
- Jesuthasan S. Fear, anxiety, and control in the zebrafish. *Dev Neurobiol*. 2012;72(3):395–403. doi: 10.1002/dneu.20873
- Filimonov DA, Lagunin AA, Glorizova TA, et al. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chem Heterocycl Compd*. 2014;50:444–457. doi: 10.1007/s10593-014-1496-1
- Westerfield M. *The zebrafish book: A guide for the laboratory use of zebrafish Danio (Brachydanio Rerio)*. 5th ed. University of Oregon, 2007.
- Stewart AM, Kalueff AV. The behavioral effects of acute  $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol and heroin (diacetylmorphine) exposure in adult zebrafish. *Brain Res*. 2014;1543:109–119. doi: 10.1016/j.brainres.2013.11.002
- Goldsmith P. Zebrafish as a pharmacological tool: the how, why and when. *Curr Opin Pharmacol*. 2004;4(5):504–512. doi: 10.1016/j.coph.2004.04.005
- Kalueff AV, Gebhardt M, Stewart AM, et al. Towards a comprehensive catalog of zebrafish behavior 1.0 and beyond. *Zebrafish*. 2013;10(1):70–86. doi: 10.1089/zeb.2012.0861
- Stewart A, Wu N, Cachat J, et al. Pharmacological modulation of anxiety-like phenotypes in adult zebrafish behavioral models. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011;35(6):1421–1431. doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.11.035
- Douglas A. *The dose-response relationship of morphine in a zebrafish (Danio rerio) model*. University of Prince Edward Island, 2012.
- Volgin AD, Yakovlev OA, Demin KA, et al. Zebrafish models for personalized psychiatry: Insights from individual, strain and sex differences, and modeling gene x environment interactions. *J Neurosci Res*. 2019;97(4):402–413. doi: 10.1002/jnr.24337
- Suzuki J, El-Haddad S. A review: fentanyl and non-pharmaceutical fentanyls. *Drug And Alcohol Dependence*. 2017;171:107–116. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2016.11.033
- Bachour R-L, Golovko O, Kellner M, Pohl J. Behavioral effects of citalopram, tramadol, and binary mixture in zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Chemosphere*. 2020;238:124587. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.124587
- Stewart AM, Ullmann JF, Norton WHJ, et al. Molecular psychiatry of zebrafish. *Mol Psychiatry*. 2015;20(1):2–17. doi: 10.1038/mp.2014.128

19. Galstyan DS, Kolesnikova TO, Kositsyn YM, et al. Assessment of general locomotor activity and anxiety in zebrafish (*Danio rerio*) in the light-dark box (tank), the shoaling test, in the novel tank and the open field tests. *Reviews on Clinical Pharmacology*

and *Drug Therapy*. 2022;20(2):123–133. EDN: AKINGC doi: 10.17816/RCF202123-133

20. Alzghari SK, Amin ZM, Chau S, et al. On the horizon: the synthetic opioid U-49900. *Cureus*. 2017;9(9):e1679. doi: 10.7759/cureus.1679

## ОБ АВТОРАХ

**Татьяна Олеговна Колесникова**; ORCID: 0000-0002-5561-8583; eLibrary SPIN: 8558-7887; e-mail: Philimontani@yandex.ru

**Вадим Анатольевич Шевырин**, канд. биол. наук; ORCID: 0000-0002-0369-0786; eLibrary SPIN: 5899-6920; e-mail: vadim.shevyrin@gmail.com

**Сергей Леонидович Хацко**; ORCID: 0000-0001-5921-6680; eLibrary SPIN: 4973-7083; e-mail: hardscore@mail.ru

\***Алан Валерьевич Калуев**, д-р биол. наук; Научно-технологический университет «Сириус», 354340, Российская Федерация, Краснодарский край, федеральная территория «Сириус», Олимпийский пр., д. 1. ORCID: 0000-0002-7525-1950; eLibrary SPIN: 4134-0515; e-mail: avkalueff@gmail.com

## AUTHORS INFO

**Tatiana O. Kolesnikova**; ORCID: 0000-0002-5561-8583; eLibrary SPIN: 8558-7887; e-mail: Philimontani@yandex.ru

**Vadim A. Shevyrin**, Cand. Sci. (Biology); ORCID: 0000-0002-0369-0786; eLibrary SPIN: 5899-6920; e-mail: vadim.shevyrin@gmail.com

**Sergey L. Khatsko**; ORCID: 0000-0001-5921-6680; eLibrary SPIN: 4973-7083; e-mail: hardscore@mail.ru

\***Allan V. Kalueff**, Dr. Sci. (Biology); Sirius University, Russia 354340, Krasnodar Region, Sirius Federal Territory, Olimpiyskiy prospect, 1. ORCID: 0000-0002-7525-1950; eLibrary SPIN: 4134-0515; e-mail: avkalueff@gmail.com

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

УДК 616-092.9

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn629889>

# Гипотермический эффект антигипоксанта 2-аминобензотиазола

Д.И. Клименко<sup>1,2,3</sup>, Е.О. Демидова<sup>2</sup>, И.В. Карпова<sup>4</sup>, В.В. Марышева<sup>3</sup>, Н.Р. Евдокимова<sup>4</sup>,  
Н.А. Щукина<sup>3</sup>, В.П. Ганапольский<sup>3</sup>, П.Д. Шабанов<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup> Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>4</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

## АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** 2-Аминобензотиазол (2-АБТ) — одно из исследованных на кафедре фармакологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (ВМедА) соединений с доказанным антигипоксическим эффектом. Механизм действия данного вещества частично связывают с центральным действием, а его протективное действие потенциально может быть обусловлено общим гипотермическим эффектом.

**Цель** — определить влияние 2-АБТ на температуру тела.

**Материалы и методы.** Опыты проводили на 24 половозрелых самцах белых беспородных мышей. 2-АБТ предварительно разводили в 0,9 % растворе хлорида натрия и вводили мышам внутривенно в дозах 32,5 мг/кг (с доказанным антигипоксическим эффектом), 21,7 или 10,8 мг/кг. Ректальную температуру измеряли электронным термометром DT-623 (Китай) до введения исследуемого вещества, а также через 5, 30 и 60 мин после инъекции.

**Результаты.** Соединение 2-АБТ оказывает выраженный дозозависимый гипотермический эффект. Данный эффект максимально выражен в дозе, в которой соединение обладает доказанным антигипоксическим свойством, — 32,5 мг/кг. Гипотермический эффект проявляется уже через 5 мин после введения, максимальное снижение температуры тела наблюдается через 30 мин, при этом эффект сохраняется в течение часа.

**Заключение.** 2-АБТ может быть перспективным соединением при создании препарата для проведения медикаментозной (управляемой) гипотермии.

**Ключевые слова:** гипотермия; антигипоксанты; терморегуляция; 2-аминобензотиазол.

## Как цитировать

Клименко Д.И., Демидова Е.О., Карпова И.В., Марышева В.В., Евдокимова Н.Р., Щукина Н.А., Ганапольский В.П., Шабанов П.Д. Гипотермический эффект антигипоксанта 2-аминобензотиазола // Психофармакология и биологическая наркология. 2024. Т. 15, № 2. С. 135–140. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn629889>

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn629889>

## Hypothermic effect of antihypoxant 2-aminobenzothiazole

Dmitry I. Klimenko<sup>1,2,3</sup>, Ekaterina O. Demidova<sup>2</sup>, Inessa V. Karpova<sup>4</sup>, Vera V. Marysheva<sup>3</sup>, Natalia R. Evdokimova<sup>4</sup>, Nella A. Shchukina<sup>3</sup>, Vyacheslav P. Ganapolsky<sup>3</sup>, Petr D. Shabanov<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup> Golikov Research Center of Toxicology, Saint Petersburg, Russia;

<sup>3</sup> Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia;

<sup>4</sup> Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

### ABSTRACT

**BACKGROUND:** The compound 2-aminobenzothiazole (2-ABT), which has a proven antihypoxic effect, was studied at the Department of Pharmacology of the Kirov Military Medical Academy. The mechanism of action of this substance is partially associated with the central action, and its protective effect may be due to the general hypothermic effect.

**AIM:** To determine the effect of 2-ABT on body temperature.

**MATERIALS AND METHODS:** Twenty-four male adult white outbred mice were studied. Moreover, 2-ABT was dissolved in 0.9% sodium chloride solution and administered intraperitoneally to mice at doses of 32.5 mg/kg (with proven antihypoxic effect), 21.7 mg/kg, and 10.8 mg/kg. Rectal temperature was obtained with an electronic thermometer (DT-623, China) before administration of the test substance and at 5, 30, and 60 min after the injection.

**RESULTS:** Compound 2-ABT has a pronounced dose-dependent hypothermic effect. This effect is maximally expressed in a dose in which the compound has a proven antihypoxic property — 32.5 mg/kg. The hypothermic effect was evident within 5 min after administration. Additionally, the maximum decrease in body temperature was observed after 30 min, whereas the effect persisted for 1 h.

**CONCLUSIONS:** 2-ABT may be a promising compound for developing a drug for drug-induced (controlled) hypothermia.

**Keywords:** hypothermia; antihypoxants; thermoregulation; 2-aminobenzothiazole.

### To cite this article

Klimenko DI, Demidova EO, Karpova IV, Marysheva VV, Evdokimova NR, Shchukina NA, Ganapolsky VP, Shabanov PD. Hypothermic effect of antihypoxant 2-aminobenzothiazole. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2024;15(2):135–140. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn629889>

Received: 03.03.2024

Accepted: 02.04.2024

Published online: 12.04.2024

## ОБОСНОВАНИЕ

В клинической медицине широкое применение нашли лекарственные средства, обладающие защитными свойствами от гипоксии. Применение данных средств направлено на повышение продолжительности жизни и защиту от острой гипоксии организма человека. К остро возникшим состояниям, сопровождающимся острой гипоксией, относится ишемия различных органов и тканей: головного мозга, почек, печени, а также плода [1]. 2-Аминобензотиазол (2-АБТ) — одно из исследованных на кафедре фармакологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова соединений с доказанным антигипоксическим эффектом [2]. Механизм действия данного вещества частично обусловлен центральным действием [2]. Есть предположение, что протективное действие потенциально может быть связано с общим гипотермическим эффектом, поэтому цель данного исследования состояла в определении влияния 2-АБТ на температуру тела.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте использованы 24 особи белых беспородных мышей-самцов массой 30–35 г. Животных, полученных из питомника «Рапполово», содержали в стандартных условиях [3, 4]. Для исследования использовали 2-АБТ, синтезированный на кафедре фармакологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Для изучения влияния на терморегуляторные процессы были выбраны три дозы препарата: первая доза — с доказанным антигипоксическим эффектом — 32,5 мг/кг [1], вторая — 21,7 мг/кг и третья — 10,8 мг/кг. Ректальную температуру регистрировали электронным термометром

DT-623 (Китай). Глубина погружения термометра составляла 1,5 см.

До начала эксперимента животных случайным образом распределили на три группы: 1-я — опытная группа (2-АБТ в дозе 32,5 мг/кг), 2-я — опытная группа (2-АБТ в дозе 21,7 мг/кг), 3-я — опытная группа (2-АБТ в дозе 10,8 мг/кг). До введения исследуемого вещества у животных определяли контрольные значения ректальной температуры электронным термометром. Температуру измеряли при комнатных условиях — 20–22 °С. Перед введением 2-АБТ предварительно растворяли в изотоническом растворе хлорида натрия (0,9 %), затем внутривенно в соответствующих дозах (32,5; 21,6; 10,8 мг/кг) вводили животным (0,1 мл/10 г веса). Температуру регистрировали через 5, 30 и 60 мин после внутривенной инъекции.

Полученные результаты анализировали при помощи пакета статистических прикладных программ Graph Pad Prism 6.0 (GraphPad Software, США). Данные обрабатывали методами непараметрической статистики для малых выборок. Для исследования временного хода изменений, происходящих у мышей каждой группы при введении определенной дозы препарата, использовали парный критерий Вилкоксона. Для сравнения эффектов различных доз 2-АБТ через 5, 30 и 60 мин после введения применяли непарный критерий Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Данные представлены в виде медиан (Me) с указанием границ вариационных рядов [ $x_{\min}$ ;  $x_{\max}$ ].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты измерения ректальной температуры у мышей трех групп приведены в таблице и графически представлены на рисунке.

**Таблица.** Значения ректальной температуры у мышей после внутривенного введения 2-АБТ

**Table.** Rectal temperature values in mice after intraperitoneal administration of 2-ABT

Доза введения 2-АБТ	Ректальная температура, °С			
	до воздействия	5 мин	30 мин	60 мин
32,5 мг/кг (1-я группа)	39,0 [38,5; 39,1]	37,0* [35,9; 37,6]	33,45*.# [32,2; 34,6]	34,0*.# [32,2; 36,3]
21,6 мг/кг (2-я группа)	39,15 [38,8; 39,4]	38,2* [37,3; 38,6]	35,9*.#,@ [33,4; 36,7]	36,85*.& [34,2; 38,4]
10,8 мг/кг (3-я группа)	38,9 [38,2; 39,1]	38,05@@. \$\$ [37,4; 38,7]	37,05*.#,@. \$\$ [35,0; 38,6]	37,7*.,@@. \$\$ [35,0; 38,9]

*Примечание.* Данные представлены в виде медиан и границ вариационных рядов ( $Me[x_{\min}; x_{\max}]$ ). Изменение температуры тела под действием 2-АБТ: \* — статистически значимые отличия от температуры, зарегистрированной у мышей соответствующей группы до введения вещества ( $p < 0,05$ ); # — статистически значимые отличия от температуры, зарегистрированной через 5 мин после введения вещества ( $p < 0,05$ ); & — статистически значимые отличия от температуры, зарегистрированной через 30 мин после введения вещества ( $p < 0,05$ ) (по критерию Вилкоксона). Дозозависимые эффекты 2-АБТ через 5, 30 и 60 мин после введения вещества: @ —  $p < 0,05$ ; @@ —  $p < 0,01$  — значимые отличия от эффекта 2-АБТ в дозе 10,8 мг/кг; \$\$ —  $p < 0,01$  — значимые отличия от эффекта 2-АБТ в дозе 21,6 мг/кг (по критерию Манна – Уитни). *Note.* Data are presented as median and range of ordered samples ( $Me[x_{\min}; x_{\max}]$ ). Changes in body temperature under the influence of 2-ABT are as follows: \*, significant differences from the temperature recorded in mice of the corresponding group before substance administration ( $p < 0,05$ ); #, significant differences from the temperature recorded 5 min after substance administration ( $p < 0,05$ ); &, significant differences from the temperature recorded 30 min after substance administration ( $p < 0,05$ ) (Wilcoxon test). Dose-dependent effects of 2-ABT at 5, 30, and 60 min after substance administration: @,  $p < 0,05$ ; @@,  $p < 0,01$ , significant differences from the effect of 2-ABT at a dose of 10.8 mg/kg; \$\$,  $p < 0,01$ , significant differences from the effect of 2-ABT at a dose of 21.6 mg/kg (according to the Mann–Whitney test)

У всех экспериментальных животных 2-АБТ снижал ректальную температуру. Максимальный гипотермический эффект отмечен при введении соединения в доказанной антигипоксической дозе (32,5 мг/кг). Гипотермическое действие вещества статистически значимо проявлялось уже спустя 5 мин после введения ( $p = 0,0313$ ). Максимальное действие 2-АБТ (32,5 мг/кг) наблюдалось на 30-й минуте ( $p = 0,0313$ ), при этом к 60-й минуте достигнутая температура статистически значимо не возросла ( $p = 0,3125$ ). Таким образом, продолжительность выраженного гипотермического эффекта 2-АБТ в дозе 32,5 мг/кг составляет не менее часа (см. табл., рис.).

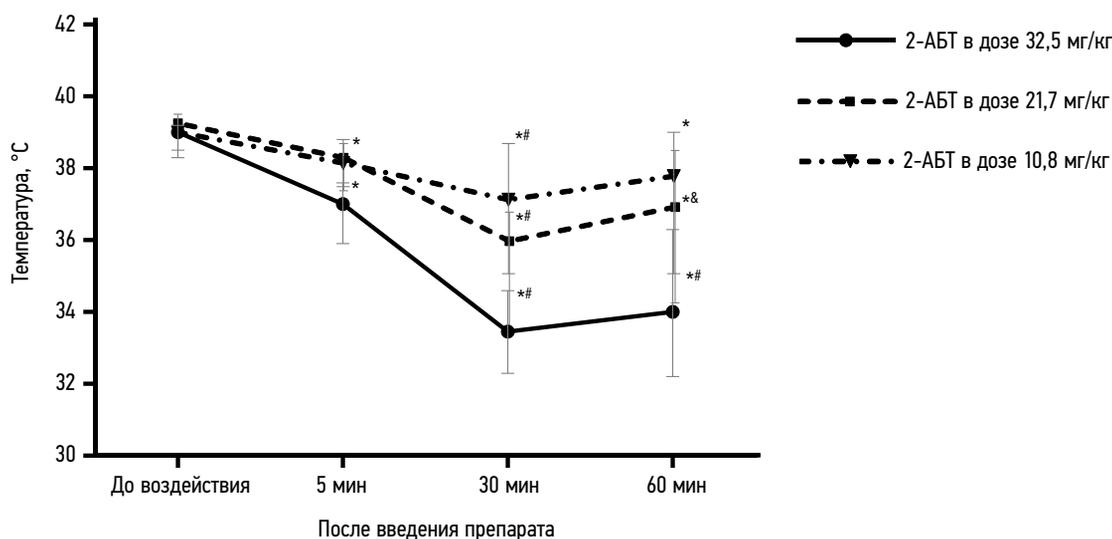
При введении 2-АБТ в дозе 21,7 мг/кг гипотермический эффект также возникает спустя 5 мин ( $p = 0,0313$ ). Через 30 мин также отмечено максимальное снижение ректальной температуры ( $p = 0,0313$ ), которое статистически значимо сохранялось до 60-й минуты исследования ( $p = 0,0313$ ). Однако по сравнению с 30-й минутой, на 60-й минуте температура тела значимо возросла ( $p = 0,0313$ ) и приближалась к результату, полученному на 5-й минуте исследования ( $p = 0,0625$ ), что свидетельствует о меньшей продолжительности гипотермического эффекта более низкой дозы вещества (21,7 мг/кг) (см. табл., рис.).

Действие 2-АБТ в дозе 10,8 мг/кг через 5 мин после введения вещества статистически значимо не проявлялось ( $p = 0,0625$ ). Однако спустя 30 мин зафиксирован

гипотермический эффект ( $p = 0,0313$ ), который сохранялся до 60-й минуты ( $p = 0,0313$ ). Таким образом, снижение дозы вещества приводит к уменьшению продолжительности гипотермического эффекта у животных (см. табл., рис.).

До введения 2-АБТ у мышей всех трех групп температура тела значимо не различалась (см. табл., рис.). Однако уже через 5 мин отмечены статистически значимые различия между группами животных, получавших 2-АБТ в дозах 10,7 и 32,5 мг/кг ( $p = 0,0087$ ) и 21,7 и 32,5 мг/кг ( $p = 0,0087$ ) (см. табл., рис.). Через 30 мин также наблюдалось статистически значимое различие между дозами 10,7 и 32,5 мг/кг ( $p = 0,0022$ ) и группой с дозами 21,7 и 32,5 мг/кг ( $p = 0,0173$ ) (см. табл., рис.). Максимальный гипотермический эффект отмечен при введении 2-АБТ в дозе 32,5 мг/кг. Через 60 мин гипотермический эффект сохранялся, при этом были выявлены значимые различия между эффектами препарата в дозах 10,7 и 32,5 мг/кг ( $p = 0,0087$ ) и 21,7 и 32,5 мг/кг ( $p = 0,0152$ ) (см. табл., рис.).

Таким образом, наиболее эффективным для снижения ректальной температуры было введение 2-АБТ в дозе 32,5 мг/кг, что позволяет рассматривать данное вещество как эффективное потенциальное гипотермическое средство с быстрым наступлением фармакологического эффекта (уже через 5 мин после введения), действие которого продолжается не менее часа после введения.



**Рис. 1.** Динамика изменения температуры тела у мышей под действием 2-АБТ. Представлены медианы значений ректальной температуры, зарегистрированных через 5, 30 и 60 мин после введения исследованного вещества в дозах: 32,5; 21,7; 10,8 мг/кг. Вертикальными штрихами обозначены границы соответствующих вариационных рядов. Временной ход изменений температуры тела под действием 2-АБТ: \* — статистически значимые отличия от температуры, зарегистрированной у мышей соответствующей группы до введения вещества ( $p < 0,05$ ); # — статистически значимые отличия от температуры, зарегистрированной у мышей соответствующей группы через 5 мин после введения вещества ( $p < 0,05$ ); & — статистически значимые отличия от температуры, зарегистрированной у мышей соответствующей группы через 30 мин после введения вещества ( $p < 0,05$ ) (по критерию Вилкоксона)

**Fig. 1.** Dynamics of body temperature changes in mice treated with 2-ABT. The figure shows the medians of rectal temperature values recorded at 5, 30, and 60 min after administration of the studied substance in the following doses: 32.5; 21.7; 10.8 mg/kg. Vertical strokes: boundaries of the corresponding variation series. The time course of changes in body temperature under the action of 2-ABT: \*, significant differences from the temperature recorded in mice of the corresponding group before the treatment with 2-ABT ( $p < 0.05$ ); #, significant differences from the temperature recorded in mice of the corresponding group 5 min after the treatment with 2-ABT ( $p < 0.05$ ); &, significant differences from the temperature recorded in mice of the corresponding group 30 min after treatment with 2-ABT ( $p < 0.05$ ) (according to the Wilcoxon criterion)

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные нами результаты о влиянии 2-АБТ на температуру гомойотермных животных согласуются с данными литературы. Так, в работе В.В. Дикманова (2011) показано, что вещества со схожими фармакоформными группами могут оказывать гипотермический эффект [5]. В частности, при введении животным препаратов — производных группы тиазолиндолов — ректальная температура достоверно снижается [5]. Аналогичные результаты получены в ходе изучения способности известных антигипоксикантов, таких как амтизол, биметил и мексидол, изменять ректальную температуру [6]. Внутривенное введение амтизола в различных дозах (10, 25, 50, 100 мг/кг) через час приводило к значимому уменьшению ректальной температуры [6]. Обнаружено также, что не только антигипоксиканты аминотиолового, тиазолиндольного и бензотиазольного ряда могут оказывать гипотермический эффект. Металлорганические селеносодержащие комплексы обладают выраженными антигипоксическими и гипотермическими свойствами [6].

Однако не только приведенные выше соединения могут воздействовать на процессы терморегуляции. Давно известно, что ряд препаратов центрального типа действия также вызывает гипотермический эффект. Так, клофелин, действуя на пресинаптические альфа-адренорецепторы, выраженно снижает температуру тела у экспериментальных животных [7]. Помимо адренергических средств гипотермический эффект могут оказывать также нейролептические средства. Яркий представитель антипсихотиков, выраженно снижающий температуру, — галоперидол [8]. Кроме того, тест на способность уменьшать температуру тела нашел применение в изучении новых лекарственных средств с антидепрессивным эффектом [9]. Гипотермический эффект, вызванный разными группами веществ, очевидно, реализуется через разные механизмы терморегуляции.

Важно отметить, что гипотермический эффект может быть актуален при терапии критических состояний, таких как шок, нарушение мозгового кровообращения, острое нарушение коронарного кровообращения, тяжелые черепно-мозговые травмы и др. [10]. Поэтому данное свойство уже известных фармакологических препаратов может способствовать расширению спектра их применения в клинической медицине, а поиск новых препаратов с гипотермическим эффектом и изучение механизма их действия представляет важное перспективное направление.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шабанов П.Д., Зарубина И.В., Новиков В.Е., Цыган В.Н. Метаболические корректоры гипоксии / под ред. А.Б. Белевитина. Санкт-Петербург: Информ-Новигатор, 2010. 912 с.
2. Патент РФ № 2776219 С1/14.07.2022. Марышева В.В., Шабанов П.Д., Михеев В.В. Способ повышения продолжительности жизни в эксперименте при гиперкапнической гипоксии.

## ВЫВОДЫ

1. Соединение 2-АБТ оказывает выраженный дозозависимый гипотермический эффект.
2. Данный эффект максимально выражен в дозе, в которой соединение обладает доказанным антигипоксическим свойством, — 32,5 мг/кг.
3. Гипотермический эффект проявляется уже через 5 мин после введения, максимальное снижение температуры тела наблюдается через 30 мин, при этом эффект сохраняется в течение часа.
4. 2-АБТ может быть перспективным соединением при создании препарата для проведения медикаментозной (управляемой) гипотермии.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Д.И. Клименко, Е.О. Демидова, И.В. Карпова, В.В. Марышева, Н.Р. Евдокимова, Н.А. Щукина — написание статьи, анализ данных; В.П. Ганапольский, П.Д. Шабанов — разработка общей концепции.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Этический комитет.** Протокол исследования № 290 от 23.04.2024 г. был одобрен локальным этическим комитетом Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова.

## ADDITIONAL INFORMATION

**Authors contribution.** Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study. D.I. Klimenko, E.O. Demidova, I.V. Karpova, V.V. Marysheva, N.R. Evdokimova, N.A. Shchukina — manuscript drafting, writing and pilot data analyses; V.P. Ganapolsky, P.D. Shabanov — general concept discussion.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Ethics approval.** The study protocol No. 290 of 23.04.2024 was approved by the local ethics committee of the Kirov Military Medical Academy.

3. ГОСТ 33215-2014 от 01.07.2016. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. Москва: Стандартинформ, 2019. 11 с.
4. ГОСТ 33216-2014 от 01.07.2016. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания

и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. Москва: Стандартинформ, 2019. 8 с.

5. Дикманов В.В., Новиков В.Е., Марышева В.В., Шабанов П.Д. Антигипоксические свойства производных тиазолоиндола // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2011. Т. 9, № 3. С. 60–64. EDN: OUNJPD

6. Сосин Д.В. Селеносодержащие металлокомплексные соединения при острой экзогенной гипоксии: автореф. дис. ... д-р мед. наук. Санкт-Петербург, 2015. 22 с.

7. Скрипка М.О., Мальцев Д.В., Спасов А.А., Перфильев М.А. Фармакологический анализ механизмов действия производного хиноксалина с анксиолитической активностью // Вестник Волгоградско-

го государственного медицинского университета. 2022. Т. 19, № 3. С. 134–140. EDN: GEYFDE doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-3-134-140

8. Lin M.T., Wang H.S., Wang Z., Chern Y.F. Haloperidol produces hypothermic effects in rats // *Experientia*. 1979. Vol. 35, N 11. P. 1469–1470. doi: 10.1007/BF01962790

9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-е изд., перераб. и доп. / под ред. П.У. Хабриева. Москва: Медицина, 2005. 832 с.

10. Choukér A., Ngo-Ahn T.J., Biesbroek R., et al. European space agency's hibernation (torpor) strategy for deep space missions: Linking biology to engineering // *Neurosci Biobehav Rev*. 2021. Vol. 131. P. 618–626. doi: 10.1016/j.neubiorev.2021.09.054

## REFERENCES

1. Shabanov PD, Zarubina IV, Novikov VE, Tsygan VN. *Metabolic correctors of hypoxia*. Belevitin AB, editor. Saint Petersburg: Inform-Navigator; 2010. 912 p. (In Russ.)

2. Patent RUS N 2776219 C1/14.07.2022. Marysheva VV, Shabanov PD, Mikheev VV. *Method of increasing life expectancy in experiment under hypercapnic hypoxia*. (In Russ.)

3. GOST 33215–2014 from 01.07.2016. *Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for equipment of premises and organisation of procedures*. Moscow: Standardinform; 2019. 11 p. (In Russ.)

4. GOST 33216–2014 from 01.07.2016. *Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for maintenance and care of laboratory rodents and rabbits*. Moscow: Standardinform; 2019. 8 p. (In Russ.)

5. Dikmanov VV, Novikov VE, Marysheva VV, Shabanov PD. Antihypoxic properties of triazinoindol derivatives. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2011;9(3):60–64. EDN: OUNJPD

6. Sosin DV. *Selenium-containing metal complex compounds in acute exogenous hypoxia: speciality* [dissertation abstract]. Saint Petersburg, 2015. 22 p. (In Russ.)

7. Skripka MO, Maltsev DV, Spasov AA, Perfiliev MA. Pharmacological analysis of the mechanisms of action of a ouinoxaline derivative with anxiolytic properties. *Journal of Volgograd State Medical University*. 2022;19(3):134–140. EDN: GEYFDE doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-3-134-140

8. Lin MT, Wang HS, Wang Z, Chern YF. Haloperidol produces hypothermic effects in rats. *Experientia*. 1979;35(11):1469–1470. doi: 10.1007/BF01962790

9. Khabriev RU, editor. *Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. 2nd ed., rev. and suppl.* Moscow: Medicine, 2005. 832 p. (In Russ.)

10. Choukér A, Ngo-Ahn TJ, Biesbroek R, et al. European space agency's hibernation (torpor) strategy for deep space missions: Linking biology to engineering. *Neurosci Biobehav Rev*. 2021;131:618–626. doi: 10.1016/j.neubiorev.2021.09.054

## ОБ АВТОРАХ

\***Дмитрий Иванович Клименко**, адрес: 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47; ORCID: 0009-0007-8168-7228; eLibrary SPIN: 8481-4489; e-mail: dima.klimenko999@mail.ru

**Екатерина Олеговна Демидова**, ORCID: 0009-0003-0820-8471; eLibrary SPIN: 1618-1510; e-mail: bedskaya.667@yandex.com

**Инесса Владимировна Карпова**, д-р биол. наук, доцент. ORCID: 0000-0001-8725-8095; eLibrary SPIN: 9874-4082; e-mail: inessa.karpova@gmail.com

**Вера Васильевна Марышева**, д-р биол. наук; e-mail: vmarycheva@rambler.ru

**Наталья Ремовна Евдокимова**, канд. биол. наук. ORCID: 0000-0003-4318-2556; eLibrary SPIN: 2087-0058; e-mail: enatalyar@mail.ru

**Нэлла Алексеевна Щукина**, ORCID: 0000-0001-6479-5971; eLibrary SPIN: 8582-5461; e-mail: tshukina.nella@gmail.com

**Вячеслав Павлович Ганапольский**, д-р мед. наук; ORCID: 0000-0001-7685-5126; eLibrary SPIN: 9872-8841; e-mail: ganvp@mail.ru

**Петр Дмитриевич Шабанов**, д-р мед. наук, профессор; ORCID: 0000-0003-1464-1127; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru

## AUTHORS INFO

\***Dmitry I. Klimenko**, address: 47 Piskarevsky pr., 195067, Saint Petersburg, Russia; ORCID: 0009-0007-8168-7228; eLibrary SPIN: 8481-4489; e-mail: dima.klimenko999@mail.ru

**Ekaterina O. Demidova**, ORCID: 0009-0003-0820-8471; eLibrary SPIN: 1618-1510; e-mail: bedskaya.667@yandex.com

**Inessa V. Karpova**, Dr. Sci. (Biology), Assistant Professor. ORCID: 0000-0001-8725-8095; eLibrary SPIN: 9874-4082; e-mail: inessa.karpova@gmail.com

**Vera V. Marysheva**, Dr. Sci. (Biology); e-mail: vmarycheva@rambler.ru

**Natalya R. Evdokimova**, Cand. Sci. (Biology). ORCID: 0000-0003-4318-2556; eLibrary SPIN: 2087-0058; e-mail: enatalyar@mail.ru

**Nella A. Shchukina**, ORCID: 0000-0001-6479-5971; eLibrary SPIN: 8582-5461; e-mail: tshukina.nella@gmail.com

**Vyacheslav P. Ganapolsky**, MD, Dr. Sci. (Medicine); ORCID: 0000-0001-7685-5126; eLibrary SPIN: 9872-8841; e-mail: ganvp@mail.ru

**Petr D. Shabanov**, Dr. Sci. (Medicine, Pharmacology), Professor; ORCID: 0000-0003-1464-1127; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn629590>

# Reinforcing systems of the brain and quantification of their work

Petr D. Shabanov<sup>1,2</sup>, Yan B. Likhtman<sup>1</sup>, Andrei A. Lebedev<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup> Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** The reinforcing systems of the brain are represented by the ventral forebrain dopaminergic bundle, which innervates the emotogenic structures of the limbic system. Their study shows the reproduction of unconditioned (self-stimulation, self-administration) and conditioned reflex (preference for place, temperature, color) reactions. The quantitative assessment of the brain's reinforcing systems remains unclear. For self-stimulation of brain structures, the change of the pedal presses in the Skinner chamber and some calculated coefficients are used, for example, the "mismatch coefficient", which characterizes the temporal characteristics of the pedal pressings.

**AIM:** To develop, test, and substantiate an additional objective quantitative method for assessing the reinforcing systems of the brain, called the "addiction coefficient", based on an analysis of the effect of three psychoactive compounds (amphetamine, morphine and ethanol) in different doses on self-stimulation of the lateral hypothalamus in rats.

**MATERIALS AND METHODS:** The main method for studying the reinforcing systems of the brain was the reaction of self-stimulation of the lateral hypothalamus in Wistar rats, which was modulated by the administration of psychoactive substances. The psychomotor stimulant amphetamine (phenamine) hydrochloride (0.5, 1, 2, and 4 mg/kg), narcotic analgesic morphine hydrochloride (1, 2, 4, and 8 mg/kg), and ethanol (0.5, 1, 2, and 4 g/kg) administered intraperitoneally were used as inductors of reinforcing. The control was the administration of 0.9% NaCl solution (0.1, 0.2, 0.4, and 0.8 ml/rat).

**RESULTS:** The use of different controls, characterized by an increase or decrease in the self-stimulation reaction in response to the introduction of 0.9% NaCl solution, showed that calculated coefficients, including the "mismatch coefficient", can change in different directions and do not objectively reflect the reinforcing effects of pharmacological substances. The proposed "addiction coefficient", which reflected the component of psychic dependence, changed unidirectionally toward an increase. The degree of this increase can be tens and hundreds of percent of the control and is significantly independent of the initial values of self-stimulation. As expected, the "addiction coefficient" increased most clearly after amphetamine administration and less significantly after morphine and ethanol injections.

**CONCLUSIONS:** The "addiction coefficient" of a psychoactive substance, calculated as the ratio of the increase in pedal presses to the value of the "mismatch coefficient", is a clear quantitative indicator when assessing the reinforcing properties of psychoactive substances in the self-stimulation reaction of the lateral hypothalamus. The "addiction coefficient" does not significantly depend on the initial level of self-stimulation and is recommended for a comparative assessment of the reinforcing properties of primarily related psychoactive compounds.

**Keywords:** reinforcing systems of the brain; structural and functional organization; self-stimulation of the lateral hypothalamus; quantitative indicators; addiction coefficient; amphetamine; morphine; ethanol; pharmacological analysis; rats.

## To cite this article

Shabanov PD, Likhtman YaB, Lebedev AA. Reinforcing systems of the brain and quantification of their work. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2024;15(2):141–153. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn629590>

Received: 29.02.2024

Accepted: 01.04.2024

Published online: 12.04.2024

УДК 612.821.2

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn629590>

# Подкрепляющие системы мозга и количественная оценка их работы

П.Д. Шабанов<sup>1,2</sup>, Я.Б. Лихтман<sup>1</sup>, А.А. Лебедев<sup>1</sup><sup>1</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;<sup>2</sup> Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

## АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** Подкрепляющие системы головного мозга представлены в основном вентральным передним дофамин-ергическим пучком, иннервирующим эмоциогенные структуры лимбической системы. Их изучение сводится к воспроизведению безусловных (самостимуляция, самовведение) и условно-рефлекторных (предпочтение места, температуры, цвета) реакций. Остаются нерешенными вопросы количественной оценки подкрепляющих систем мозга. Для самостимуляции мозговых структур используют прирост нажатий на педаль в камере Скиннера и некоторые расчетные коэффициенты, например «коэффициент рассогласования», характеризующий временные особенности нажатия на педаль.

**Цель** — разработка, апробация и обоснование дополнительного объективного количественного способа оценки подкрепляющих систем мозга, названного «коэффициентом аддиктивности», на основе анализа влияния трех психоактивных соединений (фенамина, морфина и этанола) в разных дозах на самостимуляцию латерального гипоталамуса у крыс.

**Материалы и методы.** Основным методом изучения подкрепляющих систем мозга была выбрана реакция самостимуляции латерального гипоталамуса у крыс Вистар, которую модулировали введением психоактивных веществ. В качестве индукторов подкрепления использовали психомоторный стимулятор фенамина (амфетамина) гидрохлорид (0,5; 1; 2; 4 мг/кг), наркотический анальгетик морфина гидрохлорид (1; 2; 4; 8 мг/кг) и этанол (0,5; 1; 2; 4 г/кг), которые вводили внутрибрюшинно. В качестве контроля вводили разные дозы 0,9 % раствора NaCl (0,1; 0,2; 0,4; 0,8 мл на крысу).

**Результаты.** Использование разных доз 0,9 % раствора NaCl в качестве контроля, вызывающих повышение или снижение реакции самостимуляции, показало, что расчетные коэффициенты, такие как «коэффициент рассогласования», также могут меняться разнонаправленно и объективно не отражать подкрепляющих эффектов фармакологических веществ. Предлагаемый нами «коэффициент аддиктивности», отражающий компонент психической зависимости, всегда меняется однонаправленно в сторону увеличения. Степень этого увеличения может составлять десятки и сотни процентов от контроля, причем существенно не зависит от исходных значений самостимуляции. Как и ожидалось, «коэффициент аддиктивности» наиболее наглядно возрастает после введения психостимулятора фенамина и менее значительно после инъекций морфина и этанола.

**Заключение.** «Коэффициент аддиктивности» психоактивного вещества, рассчитываемый как соотношение прироста нажатий на педаль к величине «коэффициента рассогласования», служит наглядным количественным показателем при оценке подкрепляющих свойств психоактивных веществ в реакции самостимуляции латерального гипоталамуса. «Коэффициент аддиктивности» существенно не зависит от исходного уровня самостимуляции и рекомендован для сравнительной оценки подкрепляющих свойств в первую очередь родственных психоактивных соединений.

**Ключевые слова:** подкрепляющие системы мозга; структурно-функциональная организация; самостимуляция латерального гипоталамуса; количественные показатели; коэффициент аддиктивности; фенамин; морфин; этанол; фармакологический анализ; крысы.

## Как цитировать

Шабанов П.Д., Лихтман Я.Б., Лебедев А.А. Подкрепляющие системы мозга и количественная оценка их работы // Психофармакология и биологическая наркология. 2024. Т. 15, № 2. С. 141–153. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn629590>

## BRAIN'S REINFORCEMENT SYSTEMS

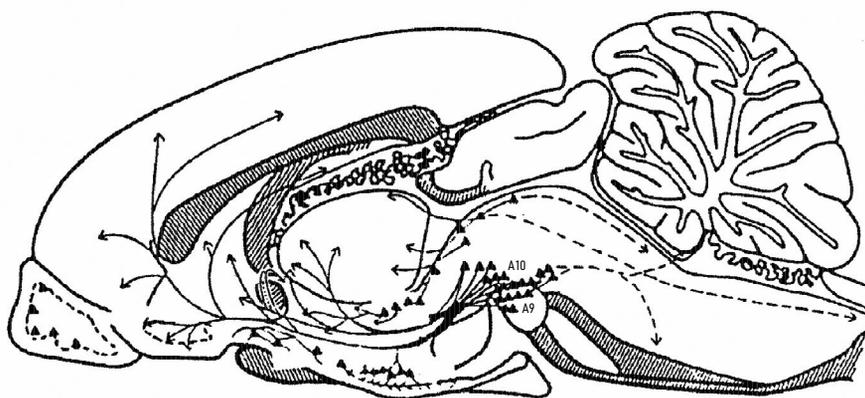
The brain's reinforcement systems have been largely described by experimental data on self-stimulation responses reproduced by various structures of the limbic system, beginning in the mid-1950s. The reinforcing systems of the brain has undergone significant changes since its initial conceptualization. Initially, the autonomy of individual brain structures (e.g., the hypothalamus) was proposed, whereby self-stimulation was reproduced [1]. This has since evolved into a unified system of brain structures, which are innervated by the medial forebrain bundle [2], more precisely by a group (cluster) of dopaminergic axons. These structures originate in the ventral region of the midbrain and extend to various limbic system (Fig. 1).

Given that the axons of the medial forebrain bundle stimulate numerous brain structures, it was assumed that they were equally involved in reinforcement or the work of the brain's reinforcing systems. However, this hypothesis was modified to indicate that only a subset of these structures,

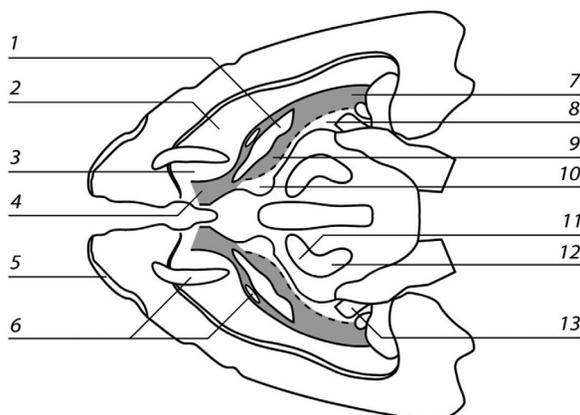
initially described based on their morphological similarities, played a role in reinforcement. This subset, designated as the extended amygdala system, included the central nucleus of the amygdala, contiguous nucleus, nucleus of the bed of the terminal stripe, and substantia innominata [3]. Subsequently, these structures of the enlarged amygdala, or paraamygdalar complex, were regarded as the morphofunctional basis of reinforcement [4, 5]. Figure 2 presents a schematic representation of the paraamygdalar complex.

However, the conventional idea about the brain reinforcement systems, which are a group of brain structures innervated by the medial forebrain bundle (Fig. 3), remains well received, especially among specialists working with the brain self-stimulation response. This is because the response is reproduced from most of the structures innervated by axons in the medial forebrain bundle of the midbrain, which has approximately 50,000 neurons [7].

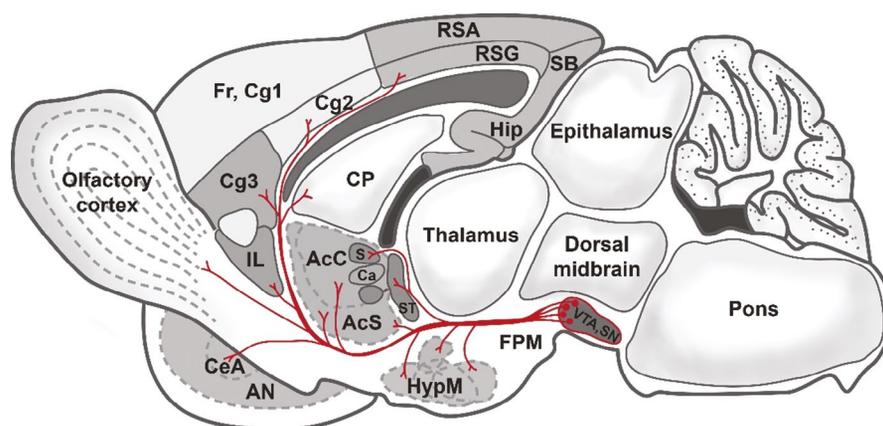
Reconstruction of the midbrain nuclei forming the medial forebrain bundle was performed in our laboratory [9]. It revealed that the structure of these nuclei is complex and that a simplified interpretation of both the bundle and its derivatives is unfeasible (Fig. 4).



**Fig. 1.** Schematic representation of the mesocorticolimbic system of the rat brain. A9 and A10: the zones of location of the dopaminergic nuclei of the ventral tegmental area [2]



**Fig. 2.** Paraamygdalar complex structures (highlighted in dark) on a cross section of the rat brain: 1, dorso-ventral pallidum; 2, caudate nucleus-putamen; 3, nucleus accumbens (core); 4, nucleus accumbens (shell); 5, lateral olfactory tract; 6, anterior commissure; 7, central nucleus of the amygdala; 8, medial region of the amygdala; 9, lateral nucleus of the bed of the stria terminalis; 10, medial core of the bed of the stria terminalis; 11, paraventricular nucleus of the hypothalamus; 12, lateral hypothalamus; 13, optic tract [6]



**Fig. 3.** Scheme of the main projection connections of the dopaminergic nuclei of the midbrain in rats [8]. VTA, SN, complex of ventral tegmental nuclei; VTA, ventral tegmental area; SN, substantia nigra of the midbrain; FPM, forebrain medial bundle; Pons, pons; Thalamus, thalamus; Dorsal midbrain, dorsal part of the midbrain; Epithalamus, epithalamus; HypM, hypothalamus medial; AcC, central part of the nucleus accumbens (core); AcS, nucleus accumbens cover (shell); S, septal nucleus; CeA, AN, complex of amygdala nuclei; IL, infralimbic field; ST, nucleus of the bed of stria terminalis; CP, globus pallidus; Olfactory cortex, visual cortex; Fr, Cg1, Cg2, and Cg3, anterior cingulate areas; RSA and RSG, retrosplenial cingulate areas; Hip, hippocampus

## BRAIN SELF-IRRITATION

Most studies on the morphofunctional organization of the brain reinforcement systems have been obtained using the self-stimulation response. As previously stated, self-stimulation is reproduced from numerous structures of the limbic system of the brain that determine an organism's emotional–motivational activity. In experimental conditions, self-stimulation is most often reproduced from the lateral nuclei of the hypothalamus. For example, in an experiment using a Skinner box, self-stimulation is characterized by high reproducibility, stability, reliability, and a sufficiently high level of pedal clicks, indicating the quantitative characteristics of the self-stimulation reaction.

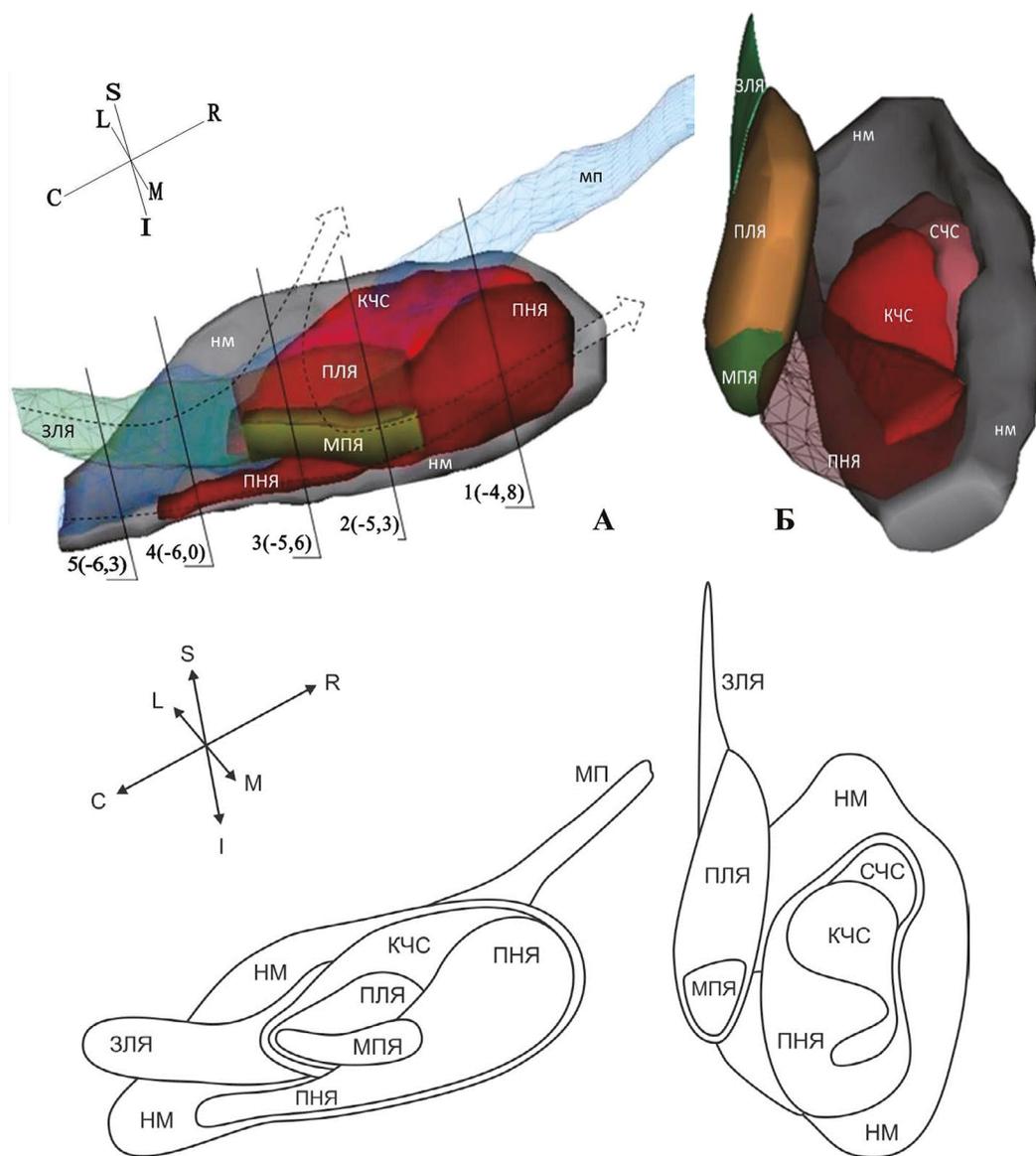
The brain's self-stimulation reaction is used to examine unconditional reinforcement, considering that no conditioned reflex mechanisms are involved in the realization of self-stimulation. However, the animal's activity in a Skinner's box is regarded as an instrumental reflex. The reveals that brain tissues specifically react to electric current, eventually forming a motor act (in a Skinner's classical box, this is pressing the pedal). The direct quantitative characteristics of the self-stimulation reaction are used for assessing physiological or pharmacological effects. The characteristics include the number of pedal presses (absolute and relative) and the increase in pedal presses after the introduction of psychoactive agents or the decrease in pedal presses when introducing depriving agents. Additionally, the indicators of the sensitivity of brain tissue to the effect of the current are determined by the current threshold, which causes the expected motor reaction. This reaction is commonly observed as pedal pressing. Importantly, the current thresholds causing self-stimulation (measured in microamperes) exhibit considerable variability between animals, due to

minor variations in the localization of electrode tips in the hypothalamus and gradual formation of connective tissue bags in the electrode area following the prolonged use of an animal with electrodes implanted in the brain (>1–1.5 months). Grigoryan [10], from the Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, USSR Academy of Sciences, Moscow, proposed the determination of a specific mismatch coefficient, which allowed for the consideration of the behavioral characteristics of rats in Skinner pedal boxes. This coefficient is calculated using a specialized formula that considers the duration of pedal pressing and the time of the beginning and end of stimulation (Fig. 5).

$$K = (T_1 - T_2) / (T_1 + T_2),$$

where  $K$  is the mismatch coefficient,  $T_1$  is the time of pedal pressing after the end of stimulation in case of prolonged pressings of duration >0.4 s, and  $T_2$  is the time from the moment of pedal release to the end of stimulation.

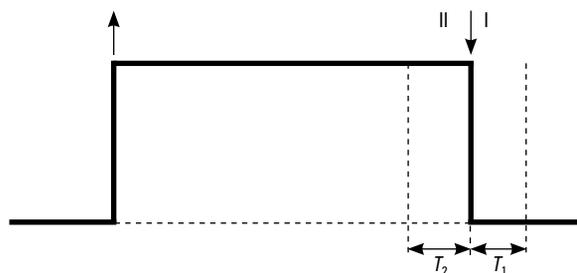
The mismatch coefficient is from  $-1$  to  $+1$  and indicates the proportion of activation of the positive and negative reinforcing phases of self-stimulation [12, 13]. A positive coefficient indicates that the rat continued to press the pedal after the brain stimulation stopped, whereas a negative mismatch coefficient shows that the rat stopped pressing the pedal before the brain stimulation stopped. The need for introducing the mismatch coefficient is conditioned by the theoretical ideas that the self-stimulation response can be considered as a simultaneous activation of positive and negative reinforcement mechanisms or as a "difference in the emotional gradient" from negative to positive [14]. The shift toward increasing and decreasing coefficients determines the changes in both the frequency of self-stimulation and reinforcing properties of the brain. Therefore, as an additional



**Fig. 4.** Topographic location of the dopaminergic nuclei of the midbrain tegmentum based on the morphological reconstruction of the nuclei of the ventral tegmental area and substantia nigra (top) and their schematic representation (bottom) according to Droblenkov. A, medial projection; Б, anterior projection. Nuclei of the ventromedial tegmentum of the midbrain: ПНЯ, paranigral nucleus; ПЛЯ, anterior linear nucleus; ЗЛЯ, posterior linear nucleus; МПЯ, interfascicular nucleus. Dopaminergic nuclei of the ventrolateral tegmentum: КЧС, compact part of the substantia nigra; СЧС, reticular part of the substantia nigra. White matter: нм, cerebral peduncle; мп, medial lemniscus. Axes directions: C-R, caudo-rostral; M-L, medio-lateral; S-I, superior-inferior. Dotted line: trunk of the medial forebrain bundle (ventral: to the cingulate cortex and nucleus accumbens; dorsal: to the striatum) [9]

criterion for changes in the reinforcing properties of self-stimulation, the mismatch coefficient is used for evaluating the effect of pharmacological drugs, as demonstrated in several studies [4–8]. Hence, we included the calculation of the mismatch coefficient in the self-stimulation data processing program and to calculate it automatically, i.e., to automate and objectify the whole range of behavioral changes in rats during self-stimulation.

However, both indicators of self-stimulation study (i.e., changes in the number of taps and mismatch coefficient) are often insufficient because they can change in different directions and thus the expected results, i.e., when



**Fig. 5.** Diagram illustrating the calculation of the “mismatch coefficient”. I and II are the moments of pedal depressing. Arrows indicate the beginning and end of stimulation

the number of taps increases (activation of reinforcing systems), a decrease in the mismatch coefficient is most often registered. Moreover, an increase in the number of taps is possible, which would result in a unidirectional change of indicators. In such cases, drawing a definitive conclusion about the activation or depression of the brain reinforcement systems is challenging. This implies that one of the indicators (more often the mismatch coefficient) is not considered, and the other is emphasized more. Furthermore, the addictive potential of psychoactive substances, such as psychostimulants and opiates, cannot be accurately determined by solely considering these two parameters. The indices obtained when psychostimulants (e.g., amphetamine, phencyclidine) are administered consistently are greater than those observed after the administration of morphine, fentanyl, diacetylmorphine, and other narcotic analgesics [15].

Attempts have been made to introduce additional indicators for assessing self-stimulation responses. A reasoning involved the isolation or calculation of an addictiveness index, which could be used to assess the drugogenic potential of a substance. This procedure is crucial in the preclinical study of psychotropic substances. The fundamental principle was to use doses of psychoactive substances that produced comparable effects [16]. However, this approach has not been consistently effective when comparing, for example, diacetylmorphine (heroin) to ethanol regarding excipotent doses that could lead to the activation of reinforcing systems and potential dependence. In the first case, the concentration will be relatively low (5–10–20 mg/kg), whereas in the second case, it will be significantly higher (>4 g/kg), which indicates intoxication with the disruption of all behavioral responses. Consequently, such an indicator is not consistently objective, as the calculated equivalent doses of substances may be exceedingly high compared to the reference (in this case, it is crucial to select a reference substance or a comparison drug) and potentially result in more adverse effects than the actual impact on the reinforcing systems of the brain.

## ADDICTIVENESS COEFFICIENT

We analyzed the effects of phenamine, morphine, and ethanol on self-stimulation of the lateral hypothalamus in rats to develop and validate an additional objective quantitative method for assessing the activation of brain reinforcement systems (an indicator of addictiveness).

Self-stimulation of the lateral hypothalamus was investigated in 78 male Wistar rats weighing 200–220 g placed inside standard plastic cages with vivarium conditions in groups of five. The animals were housed at the Institute of Experimental Medicine and maintained under inverted light conditions between the hours of 08:00 and 20:00, with an air temperature of 20°C–22°C and a relative humidity of 50%–70%. They had free access to water and food. Traditional

brain self-stimulation, in the form of pedal self-stimulation in Skinner's box, was used.

Electrodes were implanted into the brains of rats under nembutal anesthesia (50 mg/kg) using a stereotactic device (Medicor, Hungary). The electrodes were constructed from nichrome and insulated in glass. The diameter of the electrode was 0.25 mm, the length of the bare tip was 0.25–0.30 mm, and its thickness was 0.12 mm. They were implanted bilaterally into the lateral hypothalamic nucleus at the following coordinates: AP = 2.5 mm posterior to the bregma, SD = 2.0 mm lateral to the sagittal suture, and H = 8.4 mm from the skull surface [17].

An electrode of indifferent composition, constructed from nichrome wire, was attached to the skull of the animal. The electrodes were connected to a microconnector fixed to the skull with self-hardening plastic.

Ten days after electrode implantation in the brain, rats were trained to press a pedal in a Skinner box for electrical stimulation of the brain. This stimulation involved rectangular pulses of negative polarity of 1 ms duration with a frequency of 100 Hz for 0.4 s. The current thresholds were set in the fixed bundle mode. For repeated stimulation, the animal was forced to press the pedal again. The frequency and duration of presses were recorded automatically. The mismatch coefficient was calculated according to the previously described methodology. On experiment day three, pharmacological preparations were initiated after the reaction reached a stable current strength. The number of pedal presses and mismatch coefficient were recorded for a 10-min interval; then, an intraperitoneal injection of the drug was performed. After 30 min, the same parameters were recorded for a 10-min interval. Furthermore, the addictiveness coefficient was calculated as the ratio of the increase in the number of pedal presses to the mismatch coefficient, which was expressed in conventional units.

At the end of all experiments, morphological control of electrode tip localization was conducted on a series of frontal brain slices, which were stained according to the Nissl method. Prior to this, coagulation through the implanted electrodes with 1 mA current for 30 s was performed.

The following were used for pharmacologic analysis and were administered intraperitoneally:

- 1) Isotonic sodium chloride solution (control: 0.1, 0.2, 0.4, and 0.8 mL per rat)
- 2) Psychomotor stimulant phenamine (amphetamine) hydrochloride (0.5, 1, 2, 2, and 4 mg/kg)
- 3) Narcotic analgesic morphine hydrochloride (1, 2, 4, and 8 mg/kg)
- 4) Ethanol (0.5, 1, 2, and 4 g/kg)

The statistical processing of the obtained quantitative data was conducted using GraphPad Prism v.6 software. Data were presented as mean ± standard deviation. The significant differences between groups were determined using one-factor ANOVA analysis of variance. For comparison

between two groups, the Student's *t*-test for independent samples was used.

Analysis of the effect of different doses of phenamine on self-stimulation of the lateral hypothalamus (Table 1) revealed a dose-dependent increase in the number of pedal presses, with a 33% increase observed after administration of 0.5 mg/kg and a 66% increase after administration of 4 mg/kg. Concurrently, the mismatch factor decreased from 0.60 to 0.34. Data indicate that phenamine activates the brain's reinforcement systems. However, the most significant findings were those related to the addictiveness coefficient, which demonstrated a gradual increase from  $2.22 \pm 0.03$  (0.5 mg/kg) to  $4.88 \pm 0.09$  (4 mg/kg). In comparing control I ( $1.15 \pm 0.02$ ) to control II ( $1.12 \pm 0.05$ ), the results demonstrated that the reinforcing systems of the brain become increasingly involved as the dose of psychostimulant increases. Two control groups were included in the study: one (I) exhibited a 10% increase in the number of taps and the other (II) demonstrated a 9% decrease in this index following the administration of 0.9% NaCl solution.

The choice of two control groups was attributed to experiments with self-stimulation, which consists in the fact that one animal (rat) is used in the experiment repeatedly. When including an animal in the experiment, electrodes are implanted in the brain for a long period (in our experiments, at least 1–1.5 months). Following the 10-day quarantine period, the rat is trained to press the pedal to receive electrical stimulation (reinforcement) for 3–4 days. This is done until the self-stimulation response of the lateral hypothalamus stabilizes.

Subsequently, before the administration of the pharmacological substance, control values of self-stimulation were recorded in each rat for 10 min. Thereafter, the pharmacological substance was administered, and

self-stimulation reaction was recorded again in 30 min for a 10-min interval. The effect of the substance was compared with the data of control testing (before substance administration). The administration of pharmacological substances was repeated with a 4–5-day interval. Each rat was used repeatedly, with a 4–5-day break between administration and testing. Thus, each rat was tested at least 7–10 times (7–10 sessions), and the results of all sessions with administration of a particular pharmacological substance were statistically calculated.

Table 1 reveals that control groups I and II diverge in the directionality of the effects of repeated testing. In the case of control group I, self-stimulation increased by 10%, whereas in the case of control group II, self-stimulation decreased by 9%. The mismatch coefficients in control group I remained relatively stable, decreasing by only 5% from  $0.21 \pm 0.02$  to  $0.20 \pm 0.01$ . The calculated addictiveness coefficient, defined as the ratio of the increase in the number of pedal presses to the mismatch coefficient in control group I, was  $1.15 \pm 0.02$ . In contrast, control group II initially exhibited a slight (–9%) decrease in self-stimulation, followed by a significant 19% decrease in the mismatch ratio from  $0.31 \pm 0.03$  to  $0.25 \pm 0.05$ . The addictiveness coefficient was found to be  $1.12 \pm 0.05$ , which was not significantly different from the result observed in control group I. This indicates that, regardless of the direction of change in the number of pedal presses (increasing or decreasing), the addictiveness coefficient remained relatively stable.

A different scenario emerged when morphine was studied in relation to self-stimulation of the lateral hypothalamus (Table 2). Two control groups were also selected for comparison with the effects of the drug. One of these (group I) exhibited a slight increase in the number of pedal presses (+10%), and the other exhibited a decrease in this index (–6%). The mismatch coefficient in control group I

**Table 1.** Effect of amphetamine at different doses on the assessing of the lateral hypothalamus in rats

Substance, dose	Number of pedal presses per 10 min (%)		Mismatch coefficient, relative units		Addictiveness coefficient, relative units
	before	after	before	after	
Control group I (0.9% NaCl solution)	147 ± 16	161 ± 12 (1.10 ± 0.08)	0.21 ± 0.02	0.20 ± 0.01 (0.95)	1.15 ± 0.02
Control group II (0.9% NaCl solution)	156 ± 13	142 ± 19 (0.91 ± 0.12)	0.31 ± 0.03	0.25 ± 0.05 (0.81)	1.12 ± 0.05
Phenamine 0.5 mg/kg	245 ± 33	325 ± 23 <sup>*\$#</sup> (1.33 ± 0.09)	0.15 ± 0.03	0.09 ± 0.02 <sup>*\$#</sup> (0.60)	2.22 ± 0.03 <sup>*\$</sup>
1 mg/kg	234 ± 17	322 ± 29 <sup>#</sup> (1.38 ± 0.12)	0.25 ± 0.05	0.11 ± 0.02 <sup>*\$#</sup> (0.44)	3.14 ± 0.05 <sup>***\$\$\$</sup>
2 mg/kg	214 ± 16	307 ± 23 <sup>*\$#</sup> (1.43 ± 0.11)	0.21 ± 0.04	0.12 ± 0.03 <sup>*\$#</sup> (0.57)	2.51 ± 0.05 <sup>**\$\$</sup>
4 mg/kg	203 ± 31	337 ± 26 <sup>*\$#</sup> (1.66 ± 0.13)	0.32 ± 0.10	0.11 ± 0.03 <sup>*\$#</sup> (0.34)	4.88 ± 0.09 <sup>***\$\$\$</sup>

Note: \**p* < 0.05; \*\**p* < 0.01; \*\*\**p* < 0.001 compared with control group 1; \$*p* < 0.05; \$\$*p* < 0.01; \$\$\$*p* < 0.001 compared with control group 2; #*p* < 0.05 compared with values before drug administration.

increased by 4% from  $0.23 \pm 0.03$  to  $0.24 \pm 0.04$ . Conversely, in control group II, the coefficient decreased significantly by 24% from  $0.34 \pm 0.03$  to  $0.26 \pm 0.05$ . Consequently, the addictiveness coefficient in control group I was  $1.06 \pm 0.04$  and  $1.24 \pm 0.07$  in control group II.

The evaluation of morphine effects on self-stimulation depended on the initial control values. In control group I, the number of pedal presses when the drug was administered at a dose of 1–2 mg/kg was not statistically different from control values, increasing only when administered at doses of 4 mg/kg (+27%) and 8 mg/kg (+31%). In contrast, in control group II, all doses of morphine (1–2–4–8 mg/kg) were found to have a significant activating reinforcement

effect on this index. The mismatch coefficient significantly decreased from  $0.22 \pm 0.02$  to  $0.13 \pm 0.04$  ( $p < 0.01$ ) following the administration of 2 mg/kg morphine. This reduction was further pronounced at a dose of 8 mg/kg, with the mismatch coefficient reaching  $0.16 \pm 0.03$ . However, reinforcing system involvement in the brain is more evident in the calculation of the addictiveness coefficient, which exhibited a moderate increase with morphine administration at all doses (1–2–4–8 mg/kg), regardless of the initial values of control groups I ( $1.06 \pm 0.04$ ) and II ( $1.24 \pm 0.05$ ). Notably, the values of the addictiveness coefficient were not particularly high compared to the effect of phenamine, which ranged from  $1.40 \pm 0.07$  to  $2.00 \pm 0.07$ .

**Table 2.** Effect of morphine at different doses on the assessing of the lateral hypothalamus in rats

Substance, dose	Number of pedal presses per 10 min (%)		Mismatch coefficient, relative units		Coefficient addictiveness coefficient, relative units
	before	after	before	after	
Control group I (0.9% NaCl solution)	166 ± 19	182 ± 12 (1.10 ± 0.09)	0.23 ± 0.03	0.24 ± 0.04 (1.04)	1.06 ± 0.04
Control group II (0.9% NaCl solution)	153 ± 12	144 ± 23 (0.94 ± 0.15)	0.34 ± 0.03	0.26 ± 0.05 (0.76)	1.24 ± 0.05
Morphine 1 mg/kg	211 ± 19	242 ± 18 <sup>§</sup> (1.15 ± 0.09)	0.28 ± 0.03	0.23 ± 0.06 (0.82)	1.40 ± 0.07* <sup>§</sup>
2 mg/kg	215 ± 21	247 ± 15 <sup>§</sup> (1.18 ± 0.11)	0.22 ± 0.02	0.13 ± 0.04* <sup>§#</sup> (0.59)	2.00 ± 0.07** <sup>§§</sup>
4 mg/kg	203 ± 31	257 ± 13* <sup>§#</sup> (1.27 ± 0.06)	0.20 ± 0.03	0.18 ± 0.05 (0.90)	1.41 ± 0.06* <sup>§</sup>
8 mg/kg	178 ± 19	232 ± 25* <sup>§#</sup> (1.31 ± 0.14)	0.20 ± 0.05	0.16 ± 0.03 <sup>§</sup> (0.80)	1.64 ± 0.04** <sup>§</sup>

Note: \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$  compared with control group 1; <sup>§</sup> $p < 0.05$ ; <sup>§§</sup> $p < 0.01$  compared with control group 2; <sup>#</sup> $p < 0.05$  compared with values before drug administration.

**Table 3.** Effect of ethanol at different doses on the assessing of the lateral hypothalamus in rats

Substance, dose	Number of pedal presses per 10 min (%)		Mismatch coefficient, relative units		Coefficient addictiveness coefficient, relative units
	before	after	before	after	
Control group I (0.9% NaCl solution)	141 ± 16	153 ± 14 (1.09 ± 0.12)	0.24 ± 0.02	0.22 ± 0.03 (0.92)	1.18 ± 0.04
Control group II (0.9% NaCl solution)	161 ± 11	145 ± 24 (0.89 ± 0.15)	0.14 ± 0.03	0.18 ± 0.06 (1.28)	0.70 ± 0.05
Ethanol 0.5 g/kg	156 ± 21	167 ± 17 (1.07 ± 0.11)	0.33 ± 0.11	0.21 ± 0.07 <sup>#</sup> (0.64)	1.67 ± 0.11* <sup>§§</sup>
1 g/kg	135 ± 13	148 ± 20 (1.10 ± 0.15)	0.21 ± 0.02	0.14 ± 0.05* <sup>§#</sup> (0.67)	1.64 ± 0.07* <sup>§§</sup>
2 g/kg	157 ± 14	192 ± 16* <sup>§#</sup> (1.22 ± 0.10)	0.25 ± 0.05	0.21 ± 0.12 (0.84)	1.45 ± 0.14* <sup>§§</sup>
4 g/kg	148 ± 16	162 ± 12 (1.10 ± 0.08)	0.21 ± 0.02	0.20 ± 0.01 (0.95)	1.16 ± 0.03 <sup>§</sup>

Note: \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$  compared with control group 1; <sup>§</sup> $p < 0.05$ ; <sup>§§</sup> $p < 0.01$  compared with control group 2; <sup>#</sup> $p < 0.05$  compared with values before drug administration.

Assessing the impact of ethanol on the brain's reinforcing systems is more challenging (Table 3). Two control groups were included in the study, which exhibited an initial increase (+9% in control group I) or decrease (-11% in control group II) in the number of pedal presses following the administration of a 0.9% NaCl solution. The mismatch coefficient in control group I showed a moderate decrease of 8% from  $0.24 \pm 0.02$  to  $0.22 \pm 0.03$ , whereas it presented a significant increase of 28% in control group II (from  $0.14 \pm 0.03$  to  $0.18 \pm 0.06$ ). Among the ethanol doses studied (range: 0.5–4 g/kg), only one (2 g/kg) resulted in a small increase in pedal presses (22%), although the mismatch coefficient exhibited a significant decrease following the administration of 0.5 and 1 g/kg. However, the proposed addictiveness coefficient was  $1.18 \pm 0.04$  in control group I and  $0.70 \pm 0.05$  in group II. The former was consistent with the data of previous experiments, in which the addictiveness coefficient ranged from 1.06 to 1.24, and the latter exhibited a notable discrepancy from the typical values, with an addictiveness coefficient of 0.70. Ethanol administration at a dose of 2 g/kg significantly increased the number of pedal presses relative to control groups I and II. Furthermore, the mismatch coefficient significantly decreased when the effect of ethanol administration at a dose of 1 g/kg was assessed, also relative to both control groups. The addictiveness coefficient showed a more pronounced increase following ethanol administration at doses of 0.5–1–2 g/kg relative to control group I and at all doses (0.5–1–2–4 g/kg) relative to control group II. Consequently, regardless of baseline control, the addictiveness coefficient remains the most feasible indicator of the activation of reinforcing systems by the self-stimulation response of the lateral hypothalamus.

Obtained data indicates that the addictiveness coefficient in all animal groups and all doses of psychoactive substances significantly increased, demonstrating the involvement of reinforcing systems in the brain in their action. The addictiveness coefficient can be easily calculated based on other quantitative indicators of self-stimulation of the lateral hypothalamus. It does not replace these indicators but takes them into account. It has a clear semantic content and specific and understandable numerical values.

Importantly, the self-stimulation reaction of the lateral hypothalamus is a reliable method for studying the reinforcing systems of the brain and reflects the psychic component of addiction to an extent. This is indicated by a gradual increase in the addictiveness coefficient with increasing doses of the psychoactive substances under study. Previously, we and other specialists considered the effect of psychotropic drugs on self-stimulation of the lateral hypothalamus as regards primary reinforcing (unconditional reflexes). This referred to the ability of brain tissue to respond specifically to electrical stimulation by motor response and reduction of the stimulus threshold at repeated stimulation [4, 6, 8]. However, the gradational increasing response to increasing doses of a

narcotic, especially when administering psychostimulants such as phenamine, may indicate that self-stimulation and addictiveness coefficient are associated with psychic dependence. This is, in narcoology, "the desire to reuse a substance to achieve a specific euphoria" [18].

Three psychoactive substances with varying addictive potential were included in the study: ethanol (0.5–4 g/kg), morphine (1–8 mg/kg), and phenamine (0.5–4 mg/kg). The initial doses were selected as threshold doses for effects on self-stimulation of the lateral hypothalamus. However, it is critical to first consider the data obtained when 0.9% sodium chloride solution (isotonic sodium chloride solution) was administered on self-stimulation. In half of all control groups, repeated administration of isotonic sodium chloride solution resulted in an increase in self-stimulation, whereas in the other half, it resulted in a decrease. In Tables 1–3, the corresponding data are presented as control groups: control group I (increase in self-stimulation) and control group II (decrease in self-stimulation). In all cases, the deviation from baseline with repeated self-stimulation did not exceed 11%, enabling the calculation of the mismatch coefficient, which did not change, decrease, nor increase. Consequently, the mismatch coefficient should not be the sole criterion for evaluating the impact of psychotropic substances. However, its initial value should be considered, as it determines the calculation of the addictiveness coefficient. Based on the experimental data, if the upper limit of the addictiveness coefficient is <1.25 or within a narrow range of this value, then the increase in the addictiveness coefficient due to the influence of a psychoactive drug can be interpreted as psychic dependence. It is crucial to compare with that under the administration of isotonic sodium chloride solution (control), because the initial values of the mismatch coefficient fluctuate significantly (from 0.70 to 1.24 in our experiments). The present study indicates that the addictiveness coefficient was the most informative and unidirectional among the three behavioral indices (pedal push increment, mismatch coefficient, and addictiveness coefficient).

Another distinction of addictiveness coefficient is its progressive increase with increasing dose of the psychoactive substance. This can be observed, for instance, in the case of the psychostimulant phenamine (Table 1). Additionally, addictiveness coefficient demonstrates an increase in comparison with the control values. Thus, the final calculated addictiveness coefficient depends on the initial control values, which can decrease, remain unchanged, or increase with repeated self-stimulation to the administration of isotonic sodium chloride solution (active control). Regarding ethanol control, data were obtained at both high (+9%) and low (-11%) levels of baseline self-stimulation. The mismatch coefficient in this case exhibited either a decrease (control group I) or an increase (control group II). The value was 0.92 in the first case and 1.28 in the second, presenting the only positive value of all the data obtained for this index. Consequently, the addictiveness

coefficient in the active control group was 0.70, showing a deep negative value. These findings indicate that the reinforcing effects of ethanol (0.5–1–2–4 g/kg) result in an approximately 2.4-fold increase in the addictiveness coefficient at doses of 0.5 and 1 g/kg, with a lesser extent of increase at doses of 2 and 4 g/kg. However, all values of the addictiveness coefficient were found to be significantly higher than the control values (Table 3).

Remarkably, ethanol at 2 and 4 g/kg correspond to the state of pronounced and deep intoxication, during which the animal's motor skills are significantly impaired. Furthermore, it is unreasonable to anticipate a notable increase in the addictiveness coefficient at these doses. This conclusion is supported by a comparison of the addictiveness coefficient at the dose of 4 g/kg ethanol ( $1.16 \pm 0.03$ ) with the corresponding indicators of control group I ( $1.18 \pm 0.04$ ), which revealed no significant differences between the two groups.

A comparable phenomenon was observed in evaluating the reinforcing properties of morphine. The maximum degree of increase in the addictiveness coefficient at the dose of 2 mg/kg can be estimated as +61%, the dose of 8 mg/kg as +32%, and doses of 1 and 4 mg/kg as only +13%–14% in comparison with control group II. These data should be evaluated in the context of the control values for the addictiveness coefficient, which in this group (II) amounted to  $1.24 \pm 0.05$ , representing a nearly twofold increase compared to that in the ethanol control group. Therefore, it could not be concluded from the obtained data that the addictive potential of morphine in doses of 1–2–4–8 mg/kg is less than that of ethanol (0.5–1–2–4 g/kg) when addictiveness coefficients amounted to +68%–142% of control values (control group II), because in the case of comparison with control group I, addictiveness coefficients amounted only to +23%–42%. Hence, the addictiveness coefficient more accurately reflects the effects of ethanol and morphine on the brain reinforcement systems.

Consequently, the addictiveness quotient is a reliable, straightforward, and convenient quantitative method for assessing the addictive potential of psychoactive compounds. It is suitable for assessing the addictive potential of psychostimulants, but not exclusively. The coefficient is more appropriately compared within a group of similar psychoactive compounds than between different groups. For example, it would be more appropriate to compare morphine, fentanyl, and trimeperidine with each other than to compare morphine to amphetamine, fentanyl to cocaine, or trimeperidine to phencyclidine. If comparisons are to be made between different groups of psychoactive substances, appropriate reference values on which to base such studies should be used. Based on our data, the control values for the addictiveness coefficient should be 1.00–1.25. A decrease in the value of the addictiveness coefficient would indicate greater reinforcing properties of the psychoactive substance, as we observed with ethanol

compared to control group II (Table 3). Thus, the controls should be strengthened by increasing the number of observations. Such an approach is beneficial for assessing the narcogenicity of different psychoactive substances.

## CONCLUSIONS

The data presented demonstrate the feasibility of calculating the addictive coefficient of a psychoactive substance as the ratio of the proportion of changes in pedal presses to the value of the mismatch coefficient when using the lateral hypothalamic self-stimulation method. For several psychoactive groups of substances, such as psychostimulants, this index shows a clear and directly proportional dose dependence, probably because it is attributed to psychic dependence. However, this pattern is not always observed. In groups in which self-stimulation is not reproduced at a high level (analgesics from the opium group, sleeping pills from the group of barbituric and isobarbituric acid derivatives, and tranquilizers from the benzodiazepine group), the addiction coefficient is not relatively indicative, because these drugs are characterized more by physical dependence. The addictiveness coefficient, along with other quantitative indicators (number of pedal presses and mismatch coefficient), can reflect the actual narcogenic potential of a psychoactive substance. Crucial for the calculation of this indicator are the corresponding reference values, which, according to our data, should be 1.00–1.25. Additionally, when using the method of self-stimulation of the lateral hypothalamus, it is better to use the addiction coefficient for comparison primarily within a group of similar psychoactive compounds, for example, among opiates, barbiturates, benzodiazepines, and psychostimulants, rather than between different groups of compounds.

## ADDITIONAL INFORMATION

**Authors contribution.** All authors made significant contributions to the conception and preparation of the article, and read and approved the final version before publication. P.D. Shabanov, Ya.B. Likhtman, A.A. Lebedev — data analysis, article writing; P.D. Shabanov — development of the general concept.

**Conflict of interest.** The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of funding.** The work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Education and Science of Russia FGWG-2022-0004 for 2022–2025 “Search of molecular targets for pharmacological action in addictive and neuroendocrine disorders and the creation of new pharmacologically active substances acting on CNS receptors”.

**Ethics approval.** The present study protocol was approved by the Ethics Committee of the Institute of Experimental Medicine Protocol No. 2/23 of 06.05.2023.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. П.Д. Шабанов, Я.Б. Лихтман, А.А. Лебедев — анализ данных, написание статьи; П.Д. Шабанов — разработка общей концепции.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## REFERENCES

1. Velle L. Effects of ibotenic acid lesion in the basal forebrain on electrical self-stimulation in the middle part of the lateral hypothalamus. *Behav Brain Res.* 1986;20(3):303–311. doi: 10.1016/0166-4328(86)90230-5
2. Björklund A, Lindvall O. Dopamine-containing systems in the CNS. Classical neurotransmitters in the CNS. In: Björklund A, Hökfelt T, editors. *Part I. Handbook of chemical neuroanatomy. Vol. 2.* Amsterdam-New York-Oxford: Elsevier, 1984. P. 55–122.
3. Koob GF. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends Pharmacol Sci.* 1992;13(5):177–180. doi: 10.1016/0165-6147(92)90060-J
4. Shabanov PD, Lebedev AA. The extended amygdala system and self-stimulation of the lateral hypothalamus in rats: modulation with opiates and opioids. *Russian journal of physiology.* 2011;97(2):180–188. EDN: NUWRXT
5. Shabanov PD, Lebedev AA, Yaklashkin AV. Significance of the GABA and dopamine system in the bed nucleus of the terminal striatum for the reinforcing effects of opioid and non-opioid narcotics on lateral hypothalamic self-stimulation in rats. *Narcology.* 2011;10(1):36–43. EDN: WTIBKJ (In Russ.)
6. Roik RO, Lebedev AA, Shabanov PD. The value of extended amygdala structures in emotive effects of narcogenic with diverse chemical structure. *Res Results Pharmacol.* 2019;5(3):11–19. doi: 10.3897/rrpharmacology.5.38389
7. Shabanov PD, Lebedev AA. Dopaminergic and serotonergic components of the self-stimulation response of the rat lateral hypothalamus with destruction of the medial prefrontal cortex. *Russian journal of physiology.* 1994;80(1):19–25. EDN: VLLIDZ (In Russ.)
8. Shabanov PD, Lebedev AA, Sheveleva MV, et al. Participation of the contiguous nucleus in the mechanisms of conditioned reinforcement in rats. *Narcology.* 2014;13(7):52–59. EDN: SJXQFD (In Russ.)

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Velle L. Effects of ibotenic acid lesion in the basal forebrain on electrical self-stimulation in the middle part of the lateral hypothalamus // *Behav Brain Res.* 1986. Vol. 20, N 3. P. 303–311. doi: 10.1016/0166-4328(86)90230-5
2. Björklund A., Lindvall O. Dopamine-containing systems in the CNS. Classical neurotransmitters in the CNS. In: Björklund A., Hökfelt T., editors. *Part I. Handbook of chemical neuroanatomy. Vol. 2.* Amsterdam-New York-Oxford: Elsevier; 1984. P. 55–122.
3. Koob G.F. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways // *Trends Pharmacol Sci.* 1992. Vol. 13, N 5. P. 177–180. doi: 10.1016/0165-6147(92)90060-J

**Источник финансирования.** Исследование выполнено в рамках государственного задания Минобрнауки России FGWG-2022-0004 на 2022–2025 гг. «Поиск молекулярных мишеней для фармакологического воздействия при аддиктивных и нейроэндокринных нарушениях и создание новых фармакологически активных веществ, действующих на рецепторы ЦНС».

**Этический комитет.** Протокол исследования был одобрен этическим комитетом Института экспериментальной медицины протокол № 2/23 от 15.06.2023.

9. Droblenkov AV, Fedorov AV, Shabanov PD. Structural features of midbrain dopaminergic nuclei. *Narcology.* 2018;17(3):41–45. EDN: XPLLBZ doi: 10.25557/1682-8313.2018.03.41-45
10. Grigoryan GA. Study of avoidance mechanisms during self-stimulation in rats. *Neuroscience and Behavioral Physiology.* 1976;26(6):1180–1187. (In Russ.)
11. Shabanov PD, Lebedev AA, Mescherov ShK. *Dopamine and reinforcing systems of the brain.* Saint Petersburg: Lan; 2002. 268 p. (In Russ.)
12. Bazyan AS, Grigoryan GA. Molecular and chemical basis of emotional states and reinforcement. *Progress in physiological science.* 2006;37(1):68–83. EDN: HSXTXJ (In Russ.)
13. Lebedev AA, Shabanov PD. Comparison of self-stimulation and conditioned place preference responses to phenamine administration in rats. *Neuroscience and Behavioral Physiology.* EDN: TOTBIX 1992;42(4):692–698. (In Russ.)
14. Tsikunov SG. Emotiogenic principle of reinforcement in the formation of behaviour. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy.* 2000;(1):26–29. (In Russ.)
15. Shabanov PD, Lebedev AA, Lyubimov AV, Kornilov VA. Dynamics of brain self-stimulation reaction in rats after forced administration of psychoactive substances. *Psychopharmacology and biological narcology.* 2009;9(1):2524–2529. (In Russ.)
16. Zwartau EE. *Methodology of the study of drug intoxication: a scientific review.* Uspensky AE, editor. Moscow: VINITI, 1988. 166 p. (In Russ.)
17. König JFR, Klippel RA. *The rat brain: a stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem.* Baltimore: Williams and Wilkins, 1963. 162 p.
18. Shabanov PD. *Narcology: a manual for doctors. 2nd ed.* Moscow: GEOTAR-Media, 2012. 829 p. (In Russ.)

4. Шабанов П.Д., Лебедев А.А. Угнетение самостимуляции латерального гипоталамуса опиатами и опиоидами, вводимыми в центральное ядро миндалины у крыс // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2011. Т. 97, № 2. С. 180–188. EDN: NUWRXT
5. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Яклашкин А.В. Значение системы ГАМК и дофамина в ядре ложа конечной полоски для подкрепляющих эффектов наркогенов опиоидной и неопиоидной структуры на самостимуляцию латерального гипоталамуса у крыс // *Наркология.* 2011. Т. 10, № 1. С. 36–43. EDN: WTIBKJ

6. Roik R.O., Lebedev A.A., Shabanov P.D. The value of extended amygdala structures in emotive effects of narcogenic with diverse chemical structure // *Res Results Pharmacol.* 2019. Vol. 5, N 3. P. 11–19. doi: 10.3897/rrpharmacology.5.38389
7. Шабанов П.Д., Лебедев А.А. Дофаминергический и серотонинергический компоненты реакции самостимуляции латерального гипоталамуса крыс с разрушением медиальной префронтальной коры // *Физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 1994. Т. 80, № 1. С. 19–25. EDN: VLLIDZ
8. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Шевелева М.В., и др. Участие прилежащего ядра в механизмах условного подкрепления у крыс // *Наркология.* 2014. Т. 13, № 7. С. 52–59. EDN: SJXQFD
9. Дробленков А.В., Федоров А.В., Шабанов П.Д. Структурные особенности дофаминергических ядер вентральной покрышки среднего мозга // *Наркология.* 2018. Т. 17, № 3. С. 41–45. EDN: XPLLBZ doi: 10.25557/1682-8313.2018.03.41-45
10. Григорьян Г.А. Исследование механизмов избегания при самостимуляции у крыс // *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова.* 1976. Т. 26, № 6. С. 1180–1187.
11. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Мещеров Ш.К. Дофамин и подкрепляющие системы мозга. Санкт-Петербург: Лань, 2002. 268 с.
12. Базян А.С., Григорьян Г.А. Молекулярно-химические основы эмоциональных состояний и подкрепления // *Успехи физиологических наук.* 2006. Т. 37, № 1. С. 68–83. EDN: HSXTXJ
13. Лебедев А.А., Шабанов П.Д. Сопоставление реакции самостимуляции и условного предпочтения места при введении фенамина у крыс // *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова.* 1992. Т. 42, № 4. С. 692–698. EDN: TOTBIX
14. Цикунов С.Г. Эмоциогенный принцип подкрепления в формировании поведения // *Вестник Российской военно-медицинской академии.* 2000. № 1. С. 26–29.
15. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Любимов А.В., Корнилов В.А. Динамика реакции самостимуляции мозга у крыс после форсированного введения психоактивных веществ // *Психофармакология и биологическая наркология.* 2009. Т. 9, № 1. С. 2524–2529.
16. Звартау Э.Э. Методология изучения наркотоксикомании: научный обзор / под ред. А.Е. Успенского. Москва: ВИНТИ, 1988. 166 с.
17. König J.F.R., Klippel R.A. The rat brain: a stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Baltimore: Williams and Wilkins; 1963. 162 p.
18. Шабанов П.Д. Наркология: руководство для врачей. 2-е изд. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 829 с.

## AUTHORS INFO

**\*Petr D. Shabanov**, Dr. Sci. (Medicine, Pharmacology), Professor; address: 12 Acad. Pavlov st., Saint Petersburg, 197022, Russia; ORCID: 0000-0003-1464-1127; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru

**Yan B. Likhtman**,  
e-mail: yanlikhtman@mail.ru

**Andrei A. Lebedev**, Dr. Sci. (Biology, Pharmacology), Professor; ORCID: 0000-0003-0297-0425; eLibrary SPIN: 4998-5204; e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

## ОБ АВТОРАХ

**\*Петр Дмитриевич Шабанов**, д-р мед. наук, профессор; адрес: Санкт-Петербург, Россия, 197022, ул. Академика Павлова, 12; ORCID: 0000-0003-1464-1127; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru

**Ян Борисович Лихтман**,  
e-mail: yanlikhtman@mail.ru

**Андрей Андреевич Лебедев**, д-р биол. наук, профессор; ORCID: 0000-0003-0297-0425; eLibrary SPIN: 4998-5204; e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

\* Corresponding author / Автор, ответственный за переписку

УДК 612.092

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn630268>

# Коррекция компульсивного переедания у крыс, переживших материнскую депривацию в раннем возрасте, с помощью нового антагониста OX1-рецепторов

А.А. Лебедев<sup>1,3</sup>, С.С. Пюрвеев<sup>1,2</sup>, Н.Д. Надбитова<sup>1</sup>, Е.Р. Бычков<sup>1</sup>,  
В.В. Лукашкова<sup>1</sup>, В.А. Лебедев<sup>1,3</sup>, П.Д. Шабанов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург Россия;

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский университет технологий управления и экономики, Санкт-Петербург Россия

## АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** Приступообразное (компульсивное) переедание (compulsive overeating, bulimia nervosa, binge eating disorder) лежит в основе нарушений пищевого поведения, включено в МКБ-11 и DSM-5 как проявление нехимической формы зависимости. Это поведенческое расстройство импульсивности и компульсивности. Ожирение и расстройства пищевого поведения характеризуются компульсивным потреблением пищи, аналогичным компульсивному употреблению наркотиков при расстройствах, связанных с употреблением психоактивных веществ.

**Цель** — изучение действия антагониста OX1-рецепторов анорекса на компульсивное переедание у животных в модели материнской депривации.

**Материалы и методы.** Половозрелые крысы-самцы, которых после рождения со 2-го по 12-й день на 3 ч отлучали от матери, получали каждый третий день 1 ч диету с высоким содержанием углеводов в течение 45 дней. При этом высококалорийную пищу за 15 мин до кормления помещали в 5 см досягаемости при визуальном контакте. Антагонист рецепторов орексина анорекс вводили интраназально 7 дней в дозе 1 мкг/1 мкл, 20 мкл.

**Результаты.** Прерывистое потребление продуктов высококалорийной пищи вызывало компульсивное переедание у крыс. У половозрелых животных, переживших депривацию от матери в раннем онтогенезе, наблюдали усиление выраженности признаков компульсивного переедания высокоуглеводной пищи в нашей модели относительно контрольной группы ( $p < 0,001$ ). При этом потребление стандартного брикетированного корма не изменялось. Интраназальное введение антагониста OX1-рецепторов анорекса снижало проявления компульсивного переедания у крыс после отлучения от матери в условиях прерывистого потребления высококалорийной пищи по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ). Потребление стандартного корма не отличалось относительно контрольной группы как до курса введения антагониста орексина, так и после его введения.

**Заключение.** Полученные в ходе работы данные предполагают новые пути изучения и синтеза средств пептидной природы на основе орексина и его антагонистов для коррекции компульсивного переедания, вызванного хроническим стрессом в онтогенезе.

**Ключевые слова:** компульсивное переедание; материнское пренебрежение; анорекс; орексин.

## Как цитировать

Лебедев А.А., Пюрвеев С.С., Надбитова Н.Д., Бычков Е.Р., Лукашкова В.В., Лебедев В.А., Шабанов П.Д. Коррекция компульсивного переедания у крыс, переживших материнскую депривацию в раннем возрасте, с помощью нового антагониста OX1-рецепторов // Психофармакология и биологическая наркология. 2024. Т. 15, № 2. С. 155–162. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn630268>

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn630268>

# Correction of compulsive overeating in rats after maternal deprivation in early age using a new antagonist of OX1 receptors

Andrei A. Lebedev<sup>1,3</sup>, Sarnig S. Pyurveev<sup>1,2</sup>, Natalia D. Nadbitova<sup>1</sup>, Eugenii R. Bychkov<sup>1</sup>, Valeriya V. Lukashkova<sup>1</sup>, Viktor A. Lebedev<sup>1,3</sup>, Petr D. Shabanov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg Russia;

<sup>2</sup> Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia;

<sup>3</sup> Saint Petersburg University of Management, Technologies and Economics, Saint Petersburg, Russia

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Compulsive overeating (bulimia nervosa, binge eating disorder) is the basis of eating disorders and is included in ICD-11 and DSM-5 as a manifestation of nonchemical addiction and a behavioral disorder of impulsivity and compulsivity. Obesity and eating disorders are characterized by compulsive food consumption, similar to compulsive drug use in substance use disorders.

**AIM:** To evaluate the effect of the OX1 receptor antagonist anthorex on compulsive overeating in animals in a maternal deprivation model.

**MATERIALS AND METHODS:** Sexually mature male rats, which were separated from their mother for 3 h after birth from days 2 to 12, were fed a high-carbohydrate diet every third day for 1 h for 45 days. High-calorie food was placed within 5 cm of reach with visual contact 15 minutes before feeding. Anthorex was administered intranasally for 7 days at a dose of 1 µg/1 µl, 20 µl.

**RESULTS:** Intermittent consumption of high-calorie foods caused compulsive overeating in rats. Sexually mature animals that experienced deprivation from their mother in early ontogenesis showed increased compulsive overeating of high-carbohydrate foods relative to the controls ( $p < 0.001$ ). Moreover, the consumption of standard briquetted feed did not change. Intranasal administration of anthorex reduced the manifestations of compulsive overeating in rats after weaning under conditions of intermittent consumption of high-calorie food compared to the control group ( $p < 0.05$ ). Consumption of standard food did not differ relative to the control group, before and after the administration of the orexin antagonist.

**CONCLUSIONS:** The study reveals new methods of studying and synthesizing peptide drugs based on orexin and its antagonists for the correction of compulsive overeating caused by chronic stress in ontogenesis.

**Keywords:** compulsive overeating; maternal deprivation; anthorex; orexin.

## To cite this article

Lebedev AA, Pyurveev SS, Nadbitova ND, Bychkov ER, Lukashkova VV, Lebedev VA, Shabanov PD. Correction of compulsive overeating in rats after maternal deprivation in early age using a new antagonist of OX1 receptors. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2024;15(2):155–162. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn630268>

Received: 10.03.2024

Accepted: 02.04.2024

Published online: 12.04.2024

## ОБОСНОВАНИЕ

Ожирение и расстройства пищевого поведения характеризуются компульсивным потреблением пищи, аналогичным компульсивному употреблению наркотиков при расстройствах, связанных с употреблением психоактивных веществ [1]. Компульсивное пищевое поведение сложно и многогранно: переедание с целью снятия негативного эмоционального состояния считается ключевым элементом компульсивного питания [1], что подтверждается данными как доклинических, так и клинических исследований [2, 3]. Считается, что переедание с целью снятия негативного эмоционального состояния вызвано двумя процессами: снижением чувствительности к вознаграждению и возникновением негативного аффекта [4].

Предполагают, что, подобно употреблению наркотиков, потребление вкусной пищи приводит к повторной стимуляции и в итоге к десенситизации рецепторов мезолимбической дофаминовой системы, основного субстрата вознаграждения и подкрепления [5–7]. Следовательно, продолжающееся переедание может отражать необходимость реактивации гипофункциональной схемы вознаграждения. При этом механизм компульсивного переедания заключается в изменении обмена ряда нейромедиаторных систем, в частности, дофамина, серотонина, норадреналина, опиоидов и также гормонов стресса [9]. В моделях ожирения и переедания на животных наблюдали снижение передачи сигналов дофаминовой системы, более низкий оборот дофамина и сниженную активность транспортера дофамина (DAT), который регулирует синаптические концентрации дофамина посредством обратного захвата [8].

Гипоталамические нейропептиды орексина А и В участвуют в регуляции цикла сон – бодрствование, пищевом поведении и механизмах вознаграждения. Орексины синтезируются в латеральном гипоталамусе и взаимодействуют с нейронами через G-протеин-ассоциированные орексиновые рецепторы 1-го и 2-го типов [10]. OX1-рецептор участвует в реакциях эмоционального поведения и избегания, тогда как OX2-рецептор регулирует циркадный суточный ритм [4, 5]. Экспериментальные и клинические исследования показали вовлечение системы орексина в ответ на стрессорные воздействия [6, 12]. Мишенями действия орексина в головном мозге являются гипоталамус, ядро ложа конечной полоски, миндалина, префронтальная кора, гиппокамп, голубое пятно [11].

Действие хронических и острых стрессов в онтогенезе приводит к значительным постстрессорным расстройствам [13]. Социальная депривация, материнское пренебрежение, физическое и сексуальное насилие в детстве связаны с отдаленными расстройствами эмоционального поведения и нарушением мотивации [14]. В результате развивается депрессия, повышается уровень тревожности и возникает злоупотребление алкоголем и наркотиками [15]. Отлучение от матери в раннем онтогенезе

вызывает у животных стойкие нарушения эмоциональных реакций и формирование зависимости от психоактивных средств [16].

В настоящее время ощущается явный недостаток научных работ, посвященных участию системы орексина в пищевой зависимости, не изучены и механизмы влияния рецепторов орексина на системы подкрепления и эмоционального поведения при стрессорных воздействиях среды. Анторекс — рекомбинантный пептидный аналог орексина с молекулярной массой 6,5 кДа — разработан в ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». Анторекс представляет собой инновационное соединение, созданное на основе генно-инженерного белка — антагониста орексина А. Анторекс направлен на блокаду OXR1-рецепторов на дофаминергических терминалях и снижение поведенческих проявлений зависимости и сопутствующие элементы эмоциональной дисфории [17].

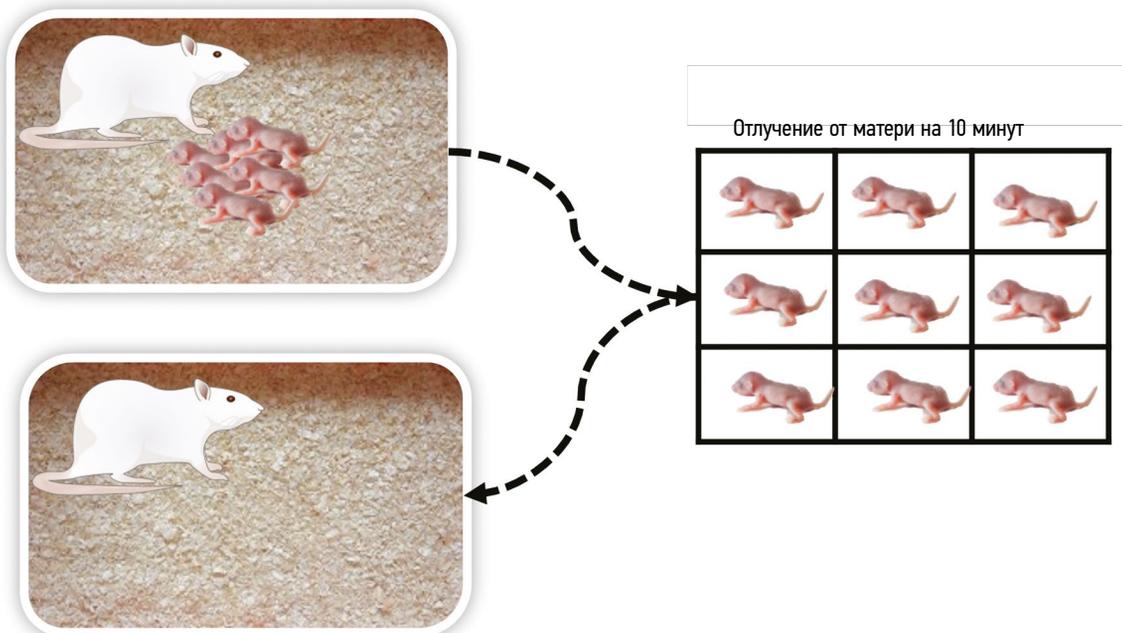
**Цель** — изучение действия нового антагониста OX1-рецепторов на компульсивное переедание у животных в модели материнской депривации.

## МЕТОДИКА

Эксперименты проведены на 29 самцах и 4 самках крыс линии Вистар массой 200–250 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область). Животных содержали в условиях вивария в стандартных пластмассовых клетках при свободном доступе к воде и пище в условиях инвертированного света в режиме 08:00–20:00 при температуре  $22 \pm 2$  °С. В ходе опыта были соблюдены принципы гуманного отношения к лабораторным крысам в соответствии с Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ Минздрава России от 2003 г. № 267).

Животные после поступления из питомника прошли 2-недельный карантин в соответствующем блоке вивария. Самок крыс линии Вистар содержали в пластиковых клетках (40×50×20 см) по 5 особей с доступом к воде и пище *ad libitum*. В каждую клетку подсаживали по одному самцу, на следующий день у самок производили забор вагинальных мазков с целью обнаружения сперматозоидов и методом световой микроскопии фиксировали наступление беременности (нулевой день). После наступления беременности животных помещали в индивидуальную клетку. Беременность протекала  $20 \pm 2$  дня. Животные были разделены на группы: группа 1 — нестрессированные животные, получающие доступ к шоколадной диете 3 раза в неделю; группа 2 МД — животные после материнской депривации, получающие доступ к шоколадной диете 3 раза в неделю.

**Модель отлучения от матери.** Крысят со 2-й по 12-й день постнатального периода помещали в индивидуальные пластиковые стаканчики на 180 мин в течение 10 последовательных дней. Зрительный контакт с матерью был исключен. После материнской депривации и молочного



**Рис. 1.** Сеанс 3-часового отделения от матери: крысята в индивидуальных пластиковых стаканчиках на 3-й постродовой день  
**Fig. 1.** Three-hour separation from the mother: rat pups in individual plastic cups on postnatal day 3

вскармливания крысят выращивали в стандартных клетках по 5 особей в каждой. В опыте использовали самцов в возрасте 90–100 дней весом 200–250 г.

**Метод компульсивного переедания высококалорийной пищи.** Животные экспериментальной группы получали в течение часа доступ к диете с высоким содержанием углеводов каждый третий день. Контрольные животные потребляли только стандартный гранулированный корм для крыс. Высококалорийная пища представляла собой смесь, приготовленную из шоколадной пасты Nutella (Ferrero, Alba, Турин, Италия), измельченного гранулированного корма для крыс (4RF18; Mucedola; Settimo Milanese) и воды в соотношении: 52 % Nutella, 33 % пищевых гранул и 15 % воды. Калорийность рациона составляла 3,63 ккал/г. Стандартный гранулированный корм для крыс помещали внутри контейнера с металлической сеткой, который подвешивали на передней стенке клетки; его вынимали из клетки, чтобы измерить вес для определения потребления корма. Смесь с пастой Nutella подавали в чашке; ручка чашки была вставлена в металлическую стенку клетки. За 15 мин до подачи кормушки с шоколадной пастой ее располагали в 5 см досягаемости от животных и при полном визуальном контакте. В течение 15 мин чашка, содержащая шоколадную пасту, находилась внутри контейнера с металлической сеткой, которая была подвешена на передней стенке клетки. Животное могло видеть пасту, а также ощущать ее запах. В течение этого 15-минутного периода крыса совершала повторяющиеся движения передних лап, головы и туловища, направленные на получение пасты, но не могла ее достать. Эта манипуляция вызывала повышение уровня кортикостерона в сыворотке крови [18].

Через 15 мин чашку помещали в клетку крыс, чтобы паста стала для них доступна. Перед сеансом переедания стандартную пищу для грызунов, присутствующую в каждой клетке, взвешивали, чтобы оценить потребление пищи за 24 ч на следующий день. Через 15 дней после начала эксперимента с шоколадной диетой крыс рассаживали в одиночные клетки и продолжали ее еще в течение 30 дней. Регистрировали следующие параметры: количество съеденного стандартного корма; количество съеденной шоколадной пасты за час доступа. Вес животных фиксировали 1 раз в неделю в строго установленный день.

В отделе нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» с помощью генно-инженерного метода был синтезирован анторекс, пептидный аналог антагониста орексина [17]. На 6-й неделе эксперимента вводили анторекс интраназально в дозе 1 мкг/1 мкл, 20 мкл, в течение 7 дней.

Для статистической обработки полученных количественных данных применяли программное обеспечение Graph Pad Prism v.6. Все данные были представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение. Статистическую значимость различий между группами определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA. Для сравнения только между двумя группами использовали *t*-критерий Стьюдента для независимых выборок.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении влияния материнской депривации на потребление стандартного корма было установлено, что среднее потребление за 10 дней тестирования в группе 2 МД

не изменялось относительно контрольной (интактной) группы 1 (рис. 2), поведение в этой группе не отличалось от контрольной (интактной) группы 1 и после введения анторекса.

При изучении влияния материнской депривации на потребление высококалорийной пищи при выдаче шоколада 3 раза в неделю было показано, что среднее суточное потребление за 10 дней тестирования в группе 2МД увеличивалось ( $p < 0,001$ ) относительно контрольной (интактной) группы 1 (рис. 3). При изучении влияния материнской депривации на потребление стандартного гранулированного корма отмечено, что среднее суточное потребление за 10 дней тестирования в группе 2МД не изменялось относительно контрольной (интактной) группы, суточное потребление за 10 дней тестирования в группе 2МД не отличалось относительно контрольной (интактной) группы и при потреблении высококалорийной пищи (выдаче шоколада 3 раза в неделю) после введения анторекса. При изучении влияния материнской депривации на потребление стандартного гранулированного корма выявлено, что среднее суточное потребление за 10 дней тестирования в группе 2МД не отличалось от этого показателя в контрольной (интактной) группе 1.

В настоящем исследовании применяли метод выработки переедания высококалорийной пищи. Нами продемонстрировано, что модель материнской депривации увеличивает проявления переедания. Стресс отнятия от матери у грызунов является моделью материнской депривации у человека. Исследование отдаленных эффектов ранней материнской депривации на животных свидетельствует о значительных проявлениях стрессорного воздействия на развитие компульсивного переедания [1].

В наших исследованиях эпизоды компульсивного переедания возникали в результате прерывистого питания высококалорийной пищи. Это можно объяснить также и ожиданием животного пищевого подкрепления в течение 15 мин, но при зрительном контакте с пищей, что согласуется с другими исследованиями [12].

Моделирование клинических проявлений компульсивного переедания на животных предоставляет ряд данных для понимания механизмов пищевого поведения. Например, участие гормональных и медиаторных механизмов в формировании положительных эмоциональных состояний при компульсивном переедании. В эти процессы вовлечены дофаминовая и серотониновая системы, а также пептиды головного мозга [12]. В настоящем исследовании на примере орексина показано, что в механизмы компульсивного переедания вовлечена и система орексигенных пептидов. Орексин в первую очередь действует на систему регуляции метаболического питания в гипоталамусе, где он образуется, и активирует пищевое поведение. Роль орексина в экстрагипоталамических отделах мозга заключается в его действии на высшие функции мозга, подкрепление и мотивацию, страх и депрессию [13].

Сочетание периодического ограничения в питании и стрессового воздействия пищи заметно увеличивало

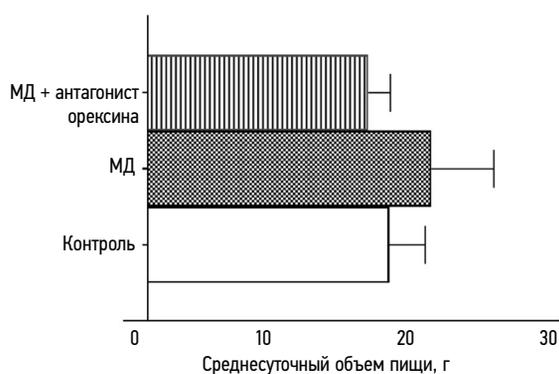


Рис. 2. Влияние материнской депривации (МД) на потребление стандартного корма при выдаче шоколада 3 раза в неделю

Fig. 2. Effect of maternal deprivation on the consumption of standard feed when giving chocolate three times a week

потребление высокоуглеводной пищи [19]. Двдцатичасовой иммобилизационный стресс снижал предпочтение сахарозы у взрослых самцов и самок мышей C57BL/6. Мыши, получавшие антагонист YNT-185 рецептора орексина 2-го типа (OX2R) до стрессирования, проявляли меньшую ангедонию по сравнению с мышами, получавшими изотонический раствор натрия хлорида. В течение первых 24 ч передача сигналов орексина снижалась и затем восстанавливалась. При анализе колокализации рецепторов в мезокортиколимбических областях мозга выявлена повышенная колокализация CB1R-OX1R после курсового введения YNT-185 [20].

Селективный антагонист OX1, GSK1059865 (10 или 30 мг/кг), и неселективный антагонист рецепторов OX1/OX2, SB-649868 (3 мг/кг), уменьшали переедание у крыс, подвергшихся стрессу [21]. Селективный антагонист OX2, JNJ-10397049 (1 или 3 мг/кг), не был эффективным при действии на потребление высокоуглеводной пищи

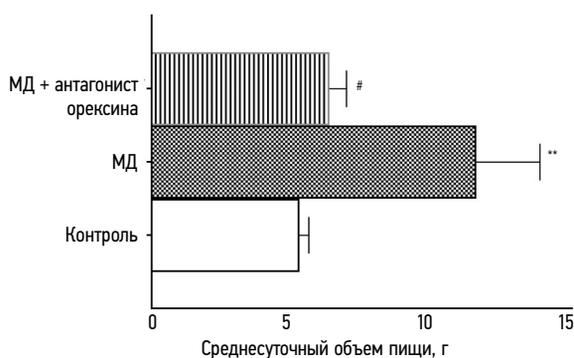


Рис. 3. Влияние материнской депривации (МД) на потребление высококалорийной пищи при выдаче шоколада 3 раза в неделю. Показано среднее суточное потребление. \*\* —  $p < 0,001$  относительно контрольной (интактной) группы животных; # —  $p < 0,05$  относительно группы животных, переживших материнскую депривацию

Fig. 3. Effect of maternal deprivation on the consumption of high-calorie food when giving chocolate three times a week. The average daily intake is shown. \*\* —  $p < 0.001$  relative to the control (intact) group of animals; # —  $p < 0.05$  relative to the group of animals that survived maternal deprivation

[21]. Напротив, селективный антагонист OX1, SB-334867 (5 мг/кг), снижал потребление только во время первого эпизода переедания. В то же время не был эффективен для предотвращения длительных периодов переедания у мышей [22]. Введение SB-334867 (500 нг/0,3 мкл) в скорлупу прилежащего ядра не уменьшало переедания у крыс-самцов с высокой или низкой импульсивностью [23]. Препараты пептидной природы играют важную роль в регуляции физиологических функций организма центральной нервной системой [24]. Установлена модуляция активности моноаминергических систем мозга посредством блокады орексиновых рецепторов в структурах расширенной миндалины на фоне системного действия психостимуляторов [25].

Мишенями действия орексина при стрессе служат нейроны гипоталамуса, синтезирующие кортикотропин-рилизинг-гормон [12], а также система расширенной миндалины, которая включает ядро ложа конечной полоски, безымянную субстанцию, центральное ядро миндалины и прилежащее ядро [22]. Структуры расширенной миндалины образуют функциональную систему для реализации подкрепляющих эффектов психотропных средств. Антагонисты рецепторов кортикотропин-рилизинг-гормона в этих структурах уменьшают эффекты наркогенов [22].

Таким образом, интраназальное введение антагониста рецепторов орексина анторекса уменьшает проявления компульсивного переедания у крыс после отнятия от матери в условиях прерывистого потребления высококалорийной пищи, что предполагает новые подходы к изучению и синтезу антагонистов рецепторов орексина для коррекции нарушений пищевого поведения, вызванного психогенными стрессами в раннем онтогенезе. В исследованиях показано, что стресс отнятия от матери в раннем онтогенезе усиливает проявления элементов компульсивного переедания у взрослых крыс.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лебедев А.А., Пюрвеев С.С., Надбитова Н.Д., и др. Снижение компульсивного переедания у крыс, вызванного материнской депривацией в раннем онтогенезе, с применением нового антагониста рецепторов грелина агрелакс // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2023. Т. 21, № 3. С. 255–262. EDN: SLBOTQ doi: 10.17816/RCF562841
2. Лебедев А.А., Пюрвеев С.С., Сексте Э.А., и др. Модели материнского пренебрежения и социальной изоляции в онтогенезе проявляют у животных элементы игровой зависимости, повышая экспрессию GHSR1A в структурах мозга // *Вопросы наркологии*. 2022. № 11–12. С. 44–66. EDN: SSLSSZ
3. Cottone P., Sabino V., Roberto M., et al. CRF system recruitment mediates dark side of compulsive eating // *PNAS USA*. 2009. Vol. 106, N 47. P. 20016–20020. doi: 10.1073/pnas.0908789106

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. А.А. Лебедев, С.С. Пюрвеев, Н.Д. Надбитова, Е.Р. Бычков, В.В. Лукашкова, В.А. Лебедев — написание статьи, анализ данных; А.А. Лебедев, П.Д. Шабанов — разработка общей концепции.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России FGWG-2022-0004 на 2022–2025 гг. «Поиск молекулярных мишеней для фармакологического воздействия при аддиктивных и нейроэндокринных нарушениях и создание новых фармакологически активных веществ, действующих на рецепторы ЦНС».

## ADDITIONAL INFORMATION

**Author contribution.** Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study. A.A. Lebedev, S.S. Pyurveev, N.D. Nadbitova, E.R. Bychkov, V.V. Lukashkova, V.A. Lebedev — manuscript drafting, writing and pilot data analyses; A.A. Lebedev, P.D. Shabanov — general concept discussion.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

**Funding source.** The work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Education and Science of Russia FGWG-2022-0004 for 2022–2025 “Search of molecular targets for pharmacological action in addictive and neuroendocrine disorders and the creation of new pharmacologically active substances acting on CNS receptors”.

4. Moore C.F., Sabino V., Koob G.F., Cottone P. Neuroscience of compulsive eating behavior // *Front Neurosci*. 2017. Vol. 11. ID 469. doi: 10.3389/fnins.2017.00469
5. Pyurveev S.S., Sizov V.V., Lebedev A.A., et al. Registration of changes in the level of extracellular dopamine in the nucleus accumbens by fast-scan cyclic voltammetry during stimulation of the zone of the ventral tegmental area, which also caused a self-stimulation // *J Evol Biochem Physiol*. 2022. Vol. 58, N 5. P. 1613–1622. doi: 10.1134/s0022093022050295
6. Пюрвеев С.С., Некрасов М.С., Деданишвили Н.С., и др. Действие хронического психического стресса в раннем онтогенезе повышает риски развития химической и нехимической форм зависимости // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2023. Т. 21, № 1. С. 69–78. EDN: GJBUYN doi: 10.17816/RCF21169-78

7. Moore C.F., Panciera J.I., Sabino V., Cottone P. Neuropharmacology of compulsive eating // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2018. Vol. 373, N 1742. ID 24. doi: 10.1098/rstb.2017.0024
8. Geiger B.M., Haburcak M., Avena N.M., et al. Deficits of mesolimbic dopamine neurotransmission in rat dietary obesity // *Neurosci.* 2009. Vol. 159, N 4. P. 1193–1199. doi: 10.1016/j.neuroscience.2009.02.007
9. Nathan P., Bullmore E. From taste hedonics to motivational drive: central  $\mu$ -opioid receptors and binge-eating behavior // *Int J Neuropsychopharmacol.* 2009. Vol. 12, N 7. P. 995–1008. doi: 10.1017/s146114570900039x
10. Aston-Jones G., Smith R.J., Sartor H., et al. Lateral hypothalamic orexin/hypocretin neurons: A role in reward-seeking and addiction // *Brain Res.* 2010. Vol. 1314. P. 74–90. doi: 10.1016/j.brainres.2009.09.106
11. Arendt D.H., Hassell J., Li H., et al. Anxiolytic function of the orexin 2/hypocretin A receptor in the basolateral amygdala // *Psychoneuroendocrinol.* 2014. Vol. 40. P. 17–26. doi: 10.1016/j.psyneuen.2013.10.010
12. Lebedev A.A., Bessolova Y.N., Efimov N.S., et al. Role of orexin peptide system in emotional overeating induced by brain reward stimulation in fed rats // *Res Results Pharmacol.* 2020. Vol. 6, N 2. P. 81–91. doi: 10.3897/rrpharmacology.6.52180
13. Lebedev A.A., Pyurveev S.S., Sexte E.A., et al. Studying the involvement of ghrelin in the mechanism of gambling addiction in rats after exposure to psychogenic stressors in early ontogenesis // *J Evol Biochem Physiol.* 2023. Vol. 59, N 4. P. 1402–1413. doi: 10.1134/S1234567823040316
14. Tata D.A. Maternal separation as a model of early stress: Effects on aspects of emotional behavior and neuroendocrine function // *Hell J Psychol.* 2012. Vol. 9, N 1. P. 84–101.
15. Naqavi M.R., Mohammadi M., Salari V., Nakhaee N. The relationship between childhood maltreatment and opiate dependency in adolescence and middle age // *Addict Health.* 2011. Vol. 3, N 3-4. P. 92–98.
16. Moffett M.C., Vicentic A., Kozel M., et al. Maternal separation alters drug intake patterns in adulthood in rats // *Biochem Pharmacol.* 2007. Vol. 73, N 3. P. 321–330. doi: 10.1016/j.bcp.2006.08.003
17. Лебедев А.А., Лукашкова В.В., Пшеничная А.Г., и др. Новый антагонист рецепторов грелина агрелакс участвует в контроле эмоционально-исследовательского поведения и уровня тревожности у крыс // *Психофармакология и биологическая наркология.* 2023. Т. 14, № 1. С. 69–79. EDN: LPJUM doi: 10.17816/phbn321624
18. Rossi M.A., Stuber G.D. Overlapping brain circuits for homeostatic and hedonic feeding // *Cell Metab.* 2018. Vol. 27, N 1. P. 42–56. doi: 10.1016/j.cmet.2017.09.021
19. Cifani C., Polidori C., Melotto S., et al. A preclinical model of binge eating elicited by yo-yo dieting and stressful exposure to food: effect of sibutramine, fluoxetine, topiramate, and midazolam // *Psychopharmacol (Berl).* 2009. Vol. 204, N 1. P. 113–125. doi: 10.1007/s00213-008-1442-y
20. Kim H.J.J., Zagzoog A., Ceni C., et al. Dual cannabinoid and orexin regulation of anhedonic behaviour caused by prolonged restraint stress // *Brain Sci.* 2023. Vol. 13, N 2. ID 314. doi: 10.3390/brainsci13020314
21. Piccoli L., Micioni Di Bonaventura M.V., Cifani C., et al. Role of orexin-1 receptor mechanisms on compulsive food consumption in a model of binge eating in female rats // *Neuropsychopharmacol.* 2012. Vol. 37, N 9. P. 1999–2011. doi: 10.1038/npp.2012.48
22. Valdivia S., Cornejo M.P., Reynaldo M., et al. Escalation in high fat intake in a binge eating model differentially engages dopamine neurons of the ventral tegmental area and requires ghrelin signaling // *Psychoneuroendocrinol.* 2015. Vol. 60. P. 206–216. doi: 10.1016/j.psyneuen.2015.06.018
23. Schuller J., Koch M. Investigating a role of orexin and 'cocaine- and amphetamine-regulated transcript' in the nucleus accumbens shell in binge eating of male rats and the relationship with impulsivity // *Physiol Behav.* 2022. Vol. 257. ID 114000. doi: 10.1016/j.physbeh.2022.114000
24. Шабанов П.Д., Ганопольский В.П., Елистратов А.А. Сравнительное изучение метеoadаптогенных свойств пептидных и не-пептидных препаратов у добровольцев // *Медицинский академический журнал.* 2007. Т. 7, № 2. С. 42–48. EDN: IAKGDR
25. Карпова И.В., Бычков Е.Р., Лебедев А.А., Шабанов П.Д. Моноаминергические эффекты унилатеральной блокады орексиновых рецепторов (OX1R) в структурах расширенной миндалины на фоне системного действия психостимулятора // *Психофармакология и биологическая наркология.* 2023. Т. 14, № 1. С. 48–62. EDN: VIUURH doi: 10.17816/phbn321621

## REFERENCES

1. Lebedev AA, Pyurveev SS, Nadbitova ND, et al. Reduction of compulsive overeating in rats caused by maternal deprivation in early ontogenesis with the use of a new ghrelin receptor antagonist agrelax. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy.* 2023;21(3):255–262. EDN: SLBOTQ doi: 10.17816/RCF562841
2. Lebedev AA, Pyurveev SS, Sekste EA, et al. Models of maternal neglect and social isolation in ontogenesis evince elements of gambling dependence in animals, increasing GHSR1A expression in cerebral structures. *Journal of addiction problems.* 2022;(11-12):44–66. EDN: SSLSSZ
3. Cottone P, Sabino V, Roberto M, et al. CRF system recruitment mediates dark side of compulsive eating. *PNAS USA.* 2009;106(47):20016–20020. doi: 10.1073/pnas.0908789106
4. Moore CF, Sabino V, Koob GF, Cottone P. Neuroscience of compulsive eating behavior. *Front Neurosci.* 2017;11:469. doi: 10.3389/fnins.2017.00469
5. Pyurveev SS, Sizov VV, Lebedev AA, et al. Registration of changes in the level of extracellular dopamine in the nucleus accumbens by fast-scan cyclic voltammetry during stimulation of the zone of the ventral tegmental area, which also caused a self-stimulation. *J Evol Biochem Physiol.* 2022;58(5):1613–1622. doi: 10.1134/s0022093022050295
6. Pyurveev SS, Nekrasov MS, Dedanishvili NS, et al. Chronic mental stress in early ontogenesis increased risks of development for chemical and non-chemical forms of addiction. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy.* 2023;21(1):69–78. EDN: GJBUYN doi: 10.17816/RCF21169-78
7. Moore CF, Panciera JI, Sabino V, Cottone P. Neuropharmacology of compulsive eating. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2018;373(1742):24. doi: 10.1098/rstb.2017.0024
8. Geiger BM, Haburcak M, Avena NM, et al. Deficits of mesolimbic dopamine neurotransmission in rat dietary obesity. *Neurosci.* 2009;159(4):1193–1199. doi: 10.1016/j.neuroscience.2009.02.007

9. Nathan P, Bullmore E. From taste hedonics to motivational drive: central  $\mu$ -opioid receptors and binge-eating behavior. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2009;12(7):995–1008. doi: 10.1017/s146114570900039x
10. Aston-Jones G, Smith RJ, Sartor H, et al. Lateral hypothalamic orexin/hypocretin neurons: A role in reward-seeking and addiction. *Brain Res*. 2010;1314:74–90. doi: 10.1016/j.brainres.2009.09.106
11. Arendt DH, Hassell J, Li H, et al. Anxiolytic function of the orexin 2/hypocretin A receptor in the basolateral amygdala. *Psychoneuroendocrinol*. 2014;40:17–26. doi: 10.1016/j.psyneuen.2013.10.010
12. Lebedev AA, Bessolova YN, Efimov NS, et al. Role of orexin peptide system in emotional overeating induced by brain reward stimulation in fed rats. *Res Results Pharmacol*. 2020;6(2):81–91. doi: 10.3897/rpharmacology.6.52180
13. Lebedev AA, Pyurveev SS, Sexte EA, et al. Studying the involvement of ghrelin in the mechanism of gambling addiction in rats after exposure to psychogenic stressors in early ontogenesis. *J Evol Biochem Physiol*. 2023;59(4):1402–1413. doi: 10.1134/S1234567823040316
14. Tata DA. Maternal separation as a model of early stress: Effects on aspects of emotional behavior and neuroendocrine function. *Hell J Psychol*. 2012;9(1):84–101.
15. Naqavi MR, Mohammadi M, Salari V, Nakhaee N. The relationship between childhood maltreatment and opiate dependency in adolescence and middle age. *Addict Health*. 2011;3(3-4):92–98.
16. Moffett MC, Vicentic A, Kozel M, et al. Maternal separation alters drug intake patterns in adulthood in rats. *Biochem Pharmacol*. 2007;73(3):321–330. doi: 10.1016/j.bcp.2006.08.003
17. Lebedev AA, Lukashkova VV, Pshenichnaya AG, et al. A new ghrelin receptor antagonist agrelox participates in the control of emotional-explorative behavior and anxiety in rats. *Psychopharmacology and biological narcoology*. 2023;14(1):69–79. EDN: LPJPUJ doi: 10.17816/phbn321624
18. Rossi MA, Stuber GD. Overlapping brain circuits for homeostatic and hedonic feeding. *Cell Metab*. 2018;27(1):42–56. doi: 10.1016/j.cmet.2017.09.021
19. Cifani C, Polidori C, Melotto S, et al. A preclinical model of binge eating elicited by yo-yo dieting and stressful exposure to food: effect of sibutramine, fluoxetine, topiramate, and midazolam. *Psychopharmacol (Berl)*. 2009;204(1):113–125. doi: 10.1007/s00213-008-1442-y
20. Kim HJJ, Zagzoog A, Ceni C, et al. Dual cannabinoid and orexin regulation of anhedonic behaviour caused by prolonged restraint stress. *Brain Sci*. 2023;13(2):314. doi: 10.3390/brainsci13020314
21. Piccoli L, Micioni Di Bonaventura MV, Cifani C, et al. Role of orexin-1 receptor mechanisms on compulsive food consumption in a model of binge eating in female rats. *Neuropsychopharmacol*. 2012;37(9):1999–2011. doi: 10.1038/npp.2012.48
22. Valdivia S, Cornejo MP, Reynaldo M, et al. Escalation in high fat intake in a binge eating model differentially engages dopamine neurons of the ventral tegmental area and requires ghrelin signaling. *Psychoneuroendocrinol*. 2015;60:206–216. doi: 10.1016/j.psyneuen.2015.06.018
23. Schuller J, Koch M. Investigating a role of orexin and 'cocaine- and amphetamine-regulated transcript' in the nucleus accumbens shell in binge eating of male rats and the relationship with impulsivity. *Physiol Behav*. 2022;257:114000. doi: 10.1016/j.physbeh.2022.114000
24. Shabanov PD, Ganapolsky VP, Elistratov AA. Comparative study of meteoadaptogenic properties of peptide and nonpeptide drugs in volunteers. *Medical academic journal*. 2007;7(2):42–48. EDN: IAKGDR
25. Karpova IV, Bychkov ER, Lebedev AA, Shabanov PD. Monoaminergic effects of the unilateral blockade of orexin receptors (OX1R) in the enlarged amygdala under psychostimulant action. *Psychopharmacology and biological narcoology*. 2023;14(1):48–62. EDN: VIUURH doi: 10.17816/phbn321621

## ОБ АВТОРАХ

\***Андрей Андреевич Лебедев**, д-р биол. наук, профессор; адрес: Санкт-Петербург, 197022, ул. Академика Павлова, 12. ORCID: 0000-0003-0297-0425; eLibrary SPIN: 4998-5204; e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

**Сарнг Саналович Пюрвеев**, ORCID: 0000-0002-4467-2269; eLibrary SPIN: 5915-9767; e-mail: dr.purveev@gmail.com

**Наталья Дмитриевна Надбитова**, канд. мед. наук; ORCID: 0000-0002-2957-226X; e-mail: natali\_805@mail.ru

**Валерия Владимировна Лукашкова**, e-mail: valeriyalu15@gmail.com

**Виктор Андреевич Лебедев**, канд. биол. наук; e-mail: vitya-lebedev-57@mail.ru

**Евгений Рудольфович Бычков**, д-р мед. наук; ORCID: 0000-0002-8911-6805; eLibrary SPIN: 9408-0799; e-mail: bychkov@mail.ru

**Петр Дмитриевич Шабанов**, д-р мед. наук, профессор; адрес: Санкт-Петербург, Россия, 197022, ул. Академика Павлова, 12; ORCID: 0000-0003-1464-1127; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru

## AUTHORS INFO

\***Andrei A. Lebedev**, Dr. Sci. (Biology), Professor; address: 12 Acad. Pavlov st., Saint Petersburg, 197022, Russia; ORCID: 0000-0003-0297-0425; eLibrary SPIN: 4998-5204; e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

**Sarng S. Pyurveev**, ORCID: 0000-0002-4467-2269; eLibrary SPIN: 5915-9767; e-mail: dr.purveev@gmail.com

**Natalia D. Nadbitova**, MD, Cand. Sci (Medicine); ORCID: 0000-0002-2957-226X; e-mail: natali\_805@mail.ru

**Valeriya V. Lukashkova**, valeriyalu15@gmail.com

**Viktor A. Lebedev**, Cand. Sci (Biology); e-mail: vitya-lebedev-57@mail.ru

**E. Rudolfovich Bychkov**, MD, Dr. Sci. (Medicine); ORCID: 0000-0002-8911-6805; eLibrary SPIN: 9408-0799; e-mail: bychkov@mail.ru

**Petr D. Shabanov**, Dr. Sci. (Medicine, Pharmacology), Professor; address: 12 Acad. Pavlov st., Saint Petersburg, 197022, Russia; ORCID: 0000-0003-1464-1127; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

УДК 612.821

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn626372>

# Результаты проспективного обсервационного исследования лабораторных и клинических показателей у пациентов с синдромом отмены алкоголя

С.И. Уткин<sup>1,2</sup>, О.Ж. Бузик<sup>1</sup>, А.А. Бурцев<sup>1</sup><sup>1</sup> Московский научно-практический центр наркологии, Москва, Россия;<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия

## АННОТАЦИЯ

**Актуальность.** Поиск маркеров и предикторов осложненных форм алкоголизма, к которым относится алкогольный делирий и острые психотические реакции с галлюцинаторными и бредовыми явлениями относится к актуальным проблемам современной наркологии.

**Цель** — клиническая апробация модели раннего выявления пациентов с высоким риском развития осложненных форм синдрома отмены алкоголя, основанной на методах лабораторной диагностики.

**Материалы и методы.** Общее число включенных пациентов — 200, исключено 9 человек, оставшиеся распределились следующим образом: неосложненный синдром отмены алкоголя развился у 98 человек (51,3 %), алкогольный делирий — у 67 (35,1 %) и алкогольное психотическое расстройство — у 26 (13,6 %). Сравнивали уровни калия, натрия, кальция и количество тромбоцитов между группами, исследовали связи между полом, возрастом и уровнем калия у пациентов с алкогольным делирием.

**Результаты.** Уровни калия, натрия и количество тромбоцитов у пациентов с алкогольным делирием статистически значимо отличались от аналогичных показателей пациентов с неосложненным синдромом отмены алкоголя и психотическим расстройством вследствие употребления алкоголя. Уровень кальция в крови статистически значимо различался у пациентов с алкогольным делирием и неосложненным синдромом отмены алкоголя. Женщины оказались менее чувствительны к метаболическим расстройствам, развивающимся вследствие употребления алкоголя, что проявлялось в меньшей частоте у них делирия. Большая распространенность алкогольного делирия среди пожилых пациентов обусловлена декомпенсацией у них механизмов регуляции метаболизма.

**Заключение.** Предиктивная модель развития алкогольного делирия, основанная на результатах исследования уровня калия в крови, доказала свою эффективность в условиях клинического применения.

**Ключевые слова:** синдром отмены алкоголя; алкогольный делирий; психотическое расстройство вследствие употребления алкоголя; электролиты; калий крови; метаболические расстройства; предикторы.

## Как цитировать

Уткин С.И., Бузик О.Ж., Бурцев А.А. Результаты проспективного обсервационного исследования лабораторных и клинических показателей у пациентов с синдромом отмены алкоголя // Психофармакология и биологическая наркология. 2024. Т. 15, № 2. С. 163–171. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn626372>

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn626372>

# Objective predictors for delirium tremens based on physiological and metabolic parameters

Sergei I. Utkin<sup>1,2</sup>, Oleg J. Buzik<sup>1</sup>, Aleksandr A. Burtsev<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Moscow Scientific and Practical Center for Narcology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenovskiy University), Moscow, Russia

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** The search for markers and predictors of complicated forms of alcoholism, which include alcoholic delirium and acute psychotic reactions with hallucinatory and delusional phenomena, is one of the actual problems of modern addiction medicine.

**AIM:** Clinical validation of a model for early detection of patients at high risk of developing complicated alcohol withdrawal syndrome (AWS) based on laboratory diagnostics.

**SUBJECTS AND METHODS:** A prospective, cohort, observational study was performed. The study included 200 patients; 9 were excluded. The included patients were distributed as follows: uncomplicated AWS, 98 patients (51.3%); alcohol delirium, 67 patients (35.1%); and alcohol-induced psychotic disorder, 26 patients (13.6%). Potassium, sodium, calcium, and platelet count were compared between the groups, and the relationships between sex, age, and potassium levels in patients with alcohol delirium were studied.

**RESULTS:** Potassium, sodium, and platelet count were significantly different in patients with alcohol delirium and in those with uncomplicated AWS and alcohol-induced psychotic disorder. Blood calcium levels were significantly different between patients with alcohol delirium and uncomplicated AWS. Women were found to be less sensitive to metabolic disorders that developed as a result of alcohol consumption, as evidenced by lower incidence of delirium. The high prevalence of alcohol delirium among older patients is a consequence of decompensation of metabolic regulation mechanisms.

**CONCLUSIONS:** Predictive model of alcohol delirium, based on the results of blood potassium level study, proved effectiveness in clinical application.

**Keywords:** alcohol withdrawal syndrome; alcohol delirium; alcohol-induced psychotic disorder; electrolytes; blood potassium; metabolic disorders; predictors.

## To cite this article

Utkin SI, Buzik OJ, Burtsev AA. Objective predictors for delirium tremens based on physiological and metabolic parameters. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2024;15(2):163–171. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn626372>

## ОБОСНОВАНИЕ

Алкогольная зависимость в настоящее время остается самой значимой проблемой для наркологии, что обусловлено ее высокой распространенностью. Так, в России количество пациентов, состоящих под наблюдением в государственных наркологических учреждениях с алкогольной зависимостью и алкогольными психозами, в 2022 г. составило 1051,4 тыс. человек [1]. Наибольшее число пациентов с алкогольной зависимостью обращаются за наркологической помощью в связи с развитием синдрома отмены алкоголя (СОА) — потенциально опасного для жизни состояния [2]. В первую очередь это касается осложненных форм СОА: алкогольного делирия, или белой горячки (ДЕЛ), и психотических расстройств, возникших вследствие отмены алкоголя (АПР).

Распространенность ДЕЛ среди пациентов с алкогольной зависимостью оценивают в 3–5 % [3]. Данные о встречаемости АПР среди зависимых от алкоголя очень разнятся. По мнению наиболее авторитетных исследователей, их доля составляет 0,4–0,7 % [4].

По сведениям J. Perälä и соавт., полученным в ходе большого скринингового исследования в общей популяции, распространенность ДЕЛ среди участников исследования с алкогольной зависимостью составила 0,89 %, а АПР — 4 % [5]. Вероятно, такая разница в оценке распространенности осложненных форм СОА может объясняться сложностью их диагностики.

ДЕЛ традиционно рассматривают как наиболее опасную форму СОА. Действительно, при ДЕЛ нарушается одна из жизненно важных функций — сознание, часто возникают осложнения инфекционной природы. Острая смертность при ДЕЛ может достигать 1–4 % [3]. При АПР основную угрозу представляют нарушения поведения, тесно связанные с расстройствами восприятия, аффектом и бредом. Острая смертность при АПР встречается крайне редко и, как правило, бывает следствием опасных или агрессивных действий самих пациентов. При этом общая подострая смертность после осложненных форм СОА оказалась достаточно велика (37 %) при отсутствии групповых различий в показателях смертности между пациентами с АПР (40,0 %) и ДЕЛ (30,8 %) [5]. Этот факт свидетельствует о том, что любые осложненные формы СОА потенциально крайне опасны и, соответственно, требуют проведения неотложной и адекватной терапии. Дифференциальная диагностика ДЕЛ и АПР на ранних стадиях — нетривиальная задача, и лечение этих форм СОА принципиально различается, поэтому поиск объективных маркеров и предикторов их развития представляется актуальным и практически важным.

В 2020–2021 гг. в МНПЦ наркологии проведено ретроспективное когортное сравнительное исследование клинических и метаболических показателей у пациентов с неосложненным СОА (НСОА) и ДЕЛ [6]. Исследование позволило выявить объективный, статистически значимый

предиктор развития ДЕЛ. Им оказался метаболический показатель — уровень калия в крови, при его снижении вероятность развития ДЕЛ на высоте синдрома отмены значительно возрастала. Кроме того, обследованные группы пациентов с НСОА и ДЕЛ существенно отличались и по другим лабораторным показателям: уровню натрия в крови и числу тромбоцитов.

С целью клинической апробации диагностической модели раннего выявления осложненных форм СОА проведено проспективное исследование с использованием ранее найденных предикторов для выявления пациентов с высоким риском развития ДЕЛ.

## Цель и задачи клинического исследования

*Цель* — клиническая апробация модели раннего выявления пациентов с высоким риском развития осложненных форм СОА, основанной на методах лабораторной диагностики.

*Задачи:*

- 1) исследовать уровень электролитов (калия и натрия) в крови пациентов с алкогольной зависимостью, госпитализированных в стационарные отделения МНПЦ наркологии после длительных запоев продолжительностью не менее 7 дней;
- 2) изучить количество тромбоцитов в крови этих пациентов;
- 3) проанализировать полученные результаты с помощью статистических методов для клинической апробации алгоритма ранней диагностики осложненных форм СОА (ДЕЛ, АПР).

## Дизайн клинического исследования

Исследование было проспективным когортным наблюдательным.

В ходе клинического исследования оценивали следующие параметры:

- возраст;
- пол;
- показатели электролитного баланса (уровень калия, натрия);
- уровень тромбоцитов крови;
- развитие различных форм СОА — НСОА, ДЕЛ, АПР;
- фармакотерапию, назначенную пациентам;
- другие лабораторные показатели (клинический анализ крови, биохимический анализ крови, клинический анализ мочи).

Клинические проявления исследуемых феноменов соответствовали определениям по МКБ-10.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 200 пациентов.

*Критерии включения:*

- наличие зависимости от алкоголя согласно критериям МКБ-10;

- продолжительность употребления алкоголя не менее 7 дней подряд, последнее употребление спиртного — не более 2 сут до госпитализации.

#### Критерии невключения:

- эндокринные и онкологические заболевания;
- эндогенные психические заболевания;
- зависимость от других, кроме алкоголя, психоактивных веществ (ПАВ) или острая интоксикация другими ПАВ;
- острые травмы, острые инфекции, острая органная недостаточность.

**Критерии исключения:** выявление критерия (критериев) невключения в ходе исследования.

Кровь для проведения лабораторных анализов забиралась из вены до начала лечебных мероприятий.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ «МНПЦ наркологии ДЗМ» (заключение № 01-23 от 31 марта 2023 г.).

Количество тромбоцитов определяли с помощью анализатора Pentra XL 80 (Horiba ABX), референсные значения —  $180\text{--}320 \times 10^9/\text{л}$ . Концентрацию электролитов в крови оценивали с помощью анализатора GEM Premier 3000 (Instrumentation Laboratory). Референсные значения натрия —  $135\text{--}145$  ммоль/л, калия —  $3,5\text{--}5,1$  ммоль/л.

#### Статистическая обработка полученных данных

Описательная статистика полученных качественных данных представлена в виде процентов, количественных — в виде медианы (*Me*) и квартилей — 25 % (*q*) и 75 % (*Q*) (поскольку распределение перечисленных выше данных отличалось от нормального). Отличным от нормального принимали распределение, для которого

рассчитанный критерий Колмогорова – Смирнова был меньше 0,05. Количественные данные для двух независимых групп сравнивали с помощью критерия Манна – Уитни (*MU*), а трех независимых групп — критерия Краскелла – Уоллиса (*H*). Задачу выявления связей между отдельными параметрами при развитии осложненных форм СОА решали с помощью линейного регрессионного анализа, применяли критерий Фишера (*F*).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Была проведена сплошная выборка 200 пациентов с алкогольной зависимостью. Из них исключены 9 пациентов: 1 в связи с развитием пневмонии, 8 по причине выявления при химико-токсикологических исследованиях других ПАВ. Оставшиеся пациенты (191 человек) распределились следующим образом: в группу НСОА включены 98 человек (51,3 %), в группу ДЕЛ — 67 человек (35,1 %) и в группу АПР — 26 человек (13,6 %). Из них мужчин — 162 (84,8 %), женщин — 29 (15,2 %).

**Сравнение средних показателей электролитов и тромбоцитов крови в группах НСОА, ДЕЛ и АПР.** Медианные значения уровней электролитов и тромбоцитов крови приведены в табл. 1 и 3.

Различия всех трех показателей между группами оказались статистически значимы ( $H = 15,8$ ,  $p < 0,0001$ ).

При проведении парных сравнений с учетом поправки Бонферрони для нескольких испытаний получены результаты, представленные в табл. 2..

Таким образом, уровень калия в крови действительно служит очень надежным предиктором развития ДЕЛ.

**Таблица 1.** Средние значения уровней калия, натрия и количества тромбоцитов у пациентов сравниваемых групп

**Table 1.** Mean values of potassium, sodium, and blood platelet counts in patients of the compared groups

Группа	Калий, ммоль/л <i>Me (q/Q)</i>	Натрий, ммоль/л <i>Me (q/Q)</i>	Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$ <i>Me (q/Q)</i>
НСОА	4,16 (3,8/4,5)	139 (135/142)	151,5 (106/242,8)
ДЕЛ	3,1 (2,8/3,3)	135 (131/138)	104 (74/155)
АПР	4,8 (4,3/4,79)	140,5 (138,2/140,5)	191 (143/192)

*Примечание:* НСОА — неосложненный синдром отмены алкоголя; ДЕЛ — алкогольный делирий; АПР — психотические расстройства, возникшие вследствие отмены алкоголя.

*Note:* НСОА — uncomplicated alcohol withdrawal syndrome; ДЕЛ — alcoholic delirium; АПР — psychotic disorders resulting from alcohol withdrawal.

**Таблица 2.** Результаты парных сравнений уровней калия, натрия и количества тромбоцитов крови в сравниваемых группах

**Table 2.** Results of pairwise comparisons of potassium, sodium, and blood platelet counts in the compared groups

Группа	Калий критерий <i>H/уровень значимости p</i>	Натрий критерий <i>H/уровень значимости p</i>	Тромбоциты критерий <i>H/уровень значимости p</i>
НСОА — ДЕЛ	$-47,2/ < 0,0001^*$	$-24,5/0,001^*$	$-21,9/0,004^*$
ДЕЛ — АПР	$-68,2/ < 0,0001^*$	$-35/0,002^*$	$-34,6/0,002^*$
АПР — НСОА	$-20,9/0,08$	$-10,5/0,8$	$-12,7/0,55$

*Примечание:* \* различия статистически значимы. См. обозначения в табл. 1.

*Note:* \* differences are significant.

**Таблица 3.** Средние значения кальция в крови у пациентов сравниваемых групп**Table 3.** Mean blood calcium counts in patients of the compared groups

Группа	Кальций, ммоль/л <i>Me (q/Q)</i> Референсные значения — 1,13–1,32	Результаты сравнения средних показателей
НСОА	1,16 (1,15/1,20)	$MU = 166,5; p = 0,03^*$
ДЕЛ	1,12 (1,09/1,17)	

*Примечание:* \* различия статистически значимы. См. обозначения в табл. 1.

*Note:* \* differences are significant.

**Таблица 4.** Возраст и пол пациентов сравниваемых групп**Table 4.** Age and sex of patients in the compared groups

Группа	Возраст, годы <i>Me (q/Q)</i>	Пол, м (%) / ж (%)
НСОА	46 (38/59)	81 (82,7)/17 (17,3)
ДЕЛ	43 (40/56)	59 (88,1)/8 (11,9)
АПР	44 (40/53)	22 (84,6)/4 (15,4)

*Примечание.* См. обозначения в табл. 1.

*Note.* See designations in Table 1.

При этом его значения у пациентов с высоким риском развития белой горячки, как правило, ниже нормальных, а при развитии АПР относительно выше показателей, характерных для НСОА. Интересно, что при сравнении групп АПР и НСОА без учета пациентов с ДЕЛ отличие уровней калия оказалось статистически значимым ( $MU = 215,5; p = 0,002$ ).

Еще одной неожиданной и интересной находкой оказалось различие между средними значениями в уровнях кальция между группами НСОА и ДЕЛ (см. табл. 3). При проведении настоящего исследования в одном из стационаров определение уровня кальция в крови было включено в перечень анализируемых показателей по умолчанию. По этой причине у части пациентов (28 в группе ДЕЛ и 19 в группе НСОА) мы смогли выполнить межгрупповое сравнение по данному параметру. К сожалению, уровень кальция в крови в группе АПР был определен только у 2 пациентов, что недостаточно для корректного сравнения. При этом уровень кальция у этих пациентов был выше, чем средние значения в сравниваемых группах. Соответственно, представляет научный интерес последующее изучение уровня кальция при развитии различных форм СОА в ходе дальнейших исследований.

Полученные результаты показали, что у пациентов с ДЕЛ уровень кальция в крови был существенно ниже, чем при НСОА. Таким образом, можно утверждать, что при развитии белой горячки наблюдается общее снижение концентрации основных катионов (натрий, калий и кальций) в крови, участвующих в поддержании потенциала покоя мембраны нейронов и формировании потенциала действия в нервной системе.

**Гендерные и возрастные особенности сравниваемых групп.** В табл. 4 представлено распределение пациентов по полу и возрасту.

Статистически значимых отличий между группами выявлено не было.

В каждой группе проведен регрессионный анализ связей между возрастом и полом с уровнем калия крови. Связь между этими показателями была отмечена только у пациентов с ДЕЛ.

Результаты сравнительного анализа уровня калия в крови у мужчин и женщин с ДЕЛ представлены в табл. 5.

Различие оказалось статистически значимым:  $MU = 45, p = 0,035$ . Данный факт свидетельствует, что женщины менее чувствительны к метаболическим расстройствам, возникающим вследствие употребления алкоголя, так как делирий у них развивается на фоне более выраженной гипокалиемии. Это в свою очередь объясняет большую распространенность ДЕЛ у мужчин.

Средний возраст у мужчин — (46 лет (q40/Q59,5) и женщин — (40,5 года (q38,3/Q44) в группе ДЕЛ существенно не отличался:  $MU = 60, p = 0,13$ .

При этом в данной группе была обнаружена сильная зависимость уровня калия от возраста:  $F = 8,5, p = 0,006$  (рис.).

Согласно результатам регрессионного анализа у возрастных пациентов с ДЕЛ средний уровень калия в крови статистически значимо выше. Это указывает на большую

**Таблица 5.** Содержание калия в крови у мужчин и женщин с алкогольным делирием**Table 5.** Blood potassium levels in men and women with alcoholic delirium

Пол пациентов	Калий, ммоль/л <i>Me (q/Q)</i>
Мужчины	3,2 (2,8/3,4)
Женщины	2,7 (2,25/3,1)

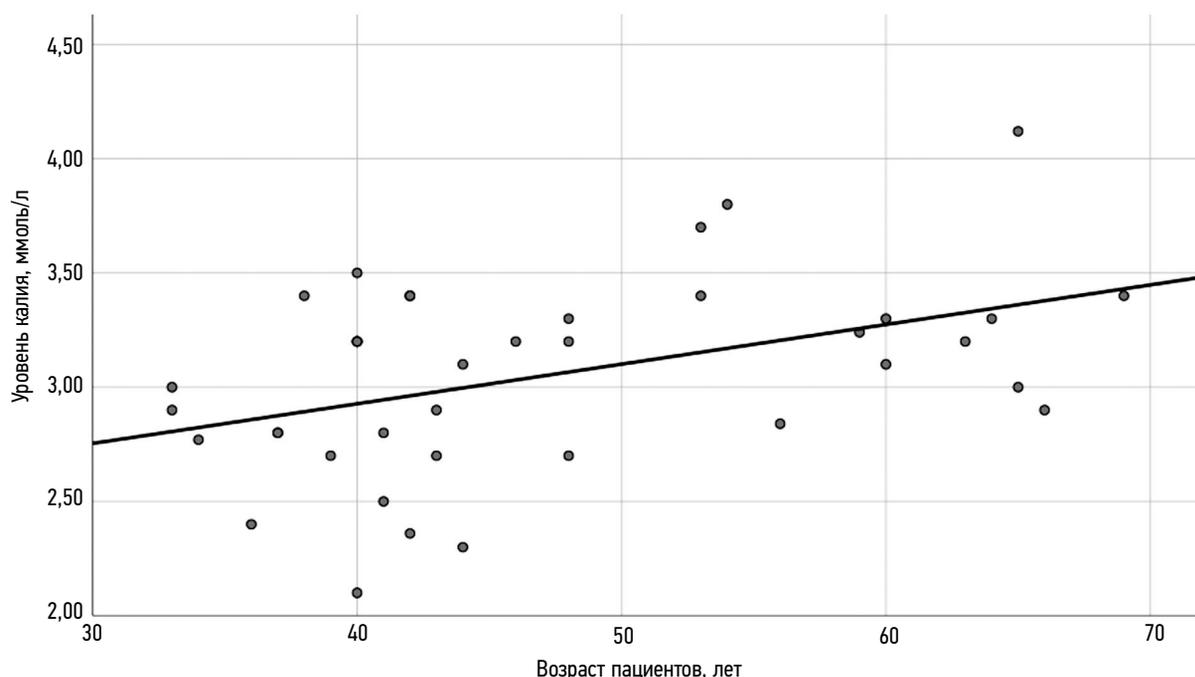


Рис. Зависимость уровня калия от возраста у пациентов с алкогольным делирием

Fig. Dependence of potassium levels on age in patients with alcoholic delirium

чувствительность пожилых пациентов к воздействию метаболических факторов и подтверждается клинической практикой повышения вероятности развития ДЕЛ с увеличением возраста.

### Анализ клинических случаев ложноотрицательных и ложноположительных результатов применения предиктивной модели развития алкогольного делирия по уровню калия в крови

У 5 пациентов группы ДЕЛ (2,5 % числа набранных пациентов) при поступлении наблюдался относительно высокий уровень калия в крови. У двоих таких пациентов развитие делирия можно объяснить погрешностями фармакотерапии. Приведем пример.

Пациент С., 62 года, поступил на лечение повторно. Запой перед поступлением продолжался около 3 нед., употреблял до 1 л водки в сутки. Последний прием алкоголя — в день поступления. Поступил с начальными проявлениями алкогольного абстинентного состояния, диагноз при поступлении — «синдром отмены алкоголя неосложненный, F10.30». Уровень калия в крови при поступлении — 4,1 ммоль/л. Назначено лечение: инфузионная терапия кристаллоидами по 400 мл в сутки, тиамин по 100 мг в сутки внутримышечно, бромдигидрохлорфенилбензодиазепин по 5 мг в сутки внутримышечно, глицин по 600 мг в сутки внутрь, аминокислоты по 500 мг в сутки внутрь, хлорпротиксен по 50 мг на ночь внутрь. На следующий день состояние пациента резко изменилось: сознание было помрачено, он дезориентировался

во времени и пространстве. Обманов восприятия отмечено не было, пациент был ослаблен, «лежал в кровати, периодически перебирал постельное белье». С диагнозом «синдром отмены алкоголя с делирием, F10.40» был переведен в отделение реанимации и интенсивной терапии, где психоз в течение 4 сут был купирован.

Анализируя данный клинический пример необходимо отметить, что назначенный пациенту хлорпротиксен оказывает холинолитическое действие и мог служить основной причиной развития делириозного расстройства. Об этом свидетельствует и необычный характер психоза: внезапное раннее начало, отсутствие обманов восприятия, быстрое окончание, нехарактерное для алкогольных гипоактивных делириев.

У троих пациентов группы ДЕЛ развитие психоза, по-видимому, было обусловлено недиагностированной соматической отягощенностью. Приведем пример.

Пациент М., 52 года, поступил на лечение повторно, перед поступлением употреблял алкоголь в течение месяца: пиво до 5 л в сутки. Последний прием алкоголя — за 2 сут до госпитализации. Диагноз при поступлении — «синдром отмены алкоголя неосложненный, F10.30». Уровень калия в крови при поступлении — 3,7 ммоль/л. При этом уровень глюкозы в крови был выше нормы (6,45 ммоль/л), наблюдался выраженный метаболический ацидоз (дефицит оснований — 11 ммоль/л). В биохимическом анализе крови отмечены высокие уровни мочевой кислоты (1049 ммоль/л), креатинина (239 ммоль/л), в анализе мочи — кетонурия. Назначено лечение: инфузионная терапия кристаллоидами по 800 мл в сутки, тиамин по 150 мг в сутки внутримышечно, пиридоксин по 150 мг

в сутки внутримышечно, диазепам по 10 мг в сутки внутримышечно. На следующий день (3-и сутки отмены алкоголя) состояние пациента ухудшилось: стал возбужденным, дезориентировался во времени и пространстве, разговаривал с несуществующими собеседниками. С диагнозом «синдром отмены алкоголя с делирием, F10.40» был переведен в отделение реанимации и интенсивной терапии, где психоз в течение 5 сут был купирован.

В отношении данного пациента необходимо констатировать, что у него действительно развился классический делирий на фоне отмены алкоголя. При этом у него также наблюдалось серьезное нарушение углеводного обмена, возможно, вследствие обострения хронического панкреатита, диагностированного хирургом. По-видимому, по этой причине уровень калия оставался относительно высоким как результат развития цитолиза.

Ложноположительный случай гипокалиемии отмечен только у одной пациентки из группы НСОА (0,5 % числа набранных пациентов). Приведем пример.

Пациентка З., 71 год, поступила на лечение повторно, перед поступлением употребляла алкоголь в течение месяца: водку около 0,5 л в сутки. Последний прием алкоголя — за 2 сут до обращения в стационар. Диагноз при поступлении — «синдром отмены алкоголя неосложненный, F10.30». Уровень калия в крови при поступлении — 2,9 ммоль/л. При этом большинство остальных лабораторных показателей находились в пределах референсных значений, что достаточно необычно для пациентов с хронической алкогольной интоксикацией. Например, активность аланинаминотрансферазы в крови составляла 71 ЕД/л, аспаратаминотрансферазы — 71,1 ЕД/л, гамма-глутамилтранспептидазы — 64 ЕД/л. Уровень натрия в крови данной пациентки находился на верхней границе нормы (145 ммоль/л), и только уровень тромбоцитов был низким ( $74 \times 10^9$ /л). Назначено лечение: инфузионная терапия кристаллоидами по 400 мл в сутки, адеметионин по 400 мг внутримышечно, тиамин по 50 мг в сутки внутримышечно, бромдигидрохлорфенилбензодиазепин по 2 мг в сутки внутримышечно, бромизовал по 150 мг + кальция глюконат в дозе 250 мг + кофеин в дозе 10 мг + папаверин в дозе 20 мг + фенobarбитал в дозе 5 мг по 1 таблетке в сутки внутрь. Состояние пациентки постепенно улучшалось, нарушений сознания, обманов восприятия, расстройств мышления не наблюдалось. После купирования СОА пациентка продолжила лечение в стационаре с диагнозом «синдром зависимости от алкоголя F10.212».

В данном случае у пациентки отмечена высокая резистентность к токсическому действию алкоголя. Несмотря на выраженную гипокалиемию, делириозного расстройства не было. Как уже указано выше, причиной феномена могла быть большая устойчивость женщин к метаболическим нарушениям в контексте развития ДЕЛ и индивидуальная высокая толерантность пациентки к токсическим эффектам алкоголя.

## Клинический пример сложной дифференциальной диагностики алкогольного делирия

Как уже отмечали, дифференциальная диагностика СОА бывает непростой задачей. Иногда состояние пациентов с СОА оценивают при поступлении как ДЕЛ или АПР (например, если были сведения об обманах восприятия, наблюдавшихся накануне). Иногда пациентам с АПР сначала устанавливали диагноз ДЕЛ. В последующем отсутствие специфических для делирия симптомов помрачения сознания позволяло установить правильный диагноз.

Стоит подчеркнуть, что у 9 человек в группе ДЕЛ (4,5 % числа набранных пациентов и 13,4 % числа ДЕЛ) возникли сложности в диагностике. Интересен клинический случай пациента с ДЕЛ, диагностированный как АПР.

Пациент Н., 38 лет, поступил на лечение впервые, доставлен бригадой скорой психиатрической помощи. Продолжительность запоя перед поступлением по причине отсутствия объективных данных установить не удалось, сам пациент сообщил, что «не помнит», со слов, употреблял водку по 0,75 л в сутки. Последний прием алкоголя — в день поступления. Был обнаружен на улице «в неадекватном состоянии, что-то искал, разговаривал с несуществующими собеседниками». При поступлении сознание оценивалось как «ясное», был правильно ориентирован в пространстве и собственной личности, текущую дату называл с ошибкой в месяц. Обманов восприятия при осмотре зарегистрировано не было. Диагноз при поступлении «преимущественно галлюцинаторное расстройство, вызванное употреблением алкоголя, F10.52». Уровень калия в крови при поступлении — 2,9 ммоль/л. По результатам химико-токсикологических исследований в моче пациента обнаружен ацетон в концентрации 0,173 г/л и фенobarбитал в концентрации 3326 нг/мл. Пациент отрицал прием фенobarбитала и содержащих его лекарственных средств (корвалол и пр.). Назначено лечение: инфузионная терапия кристаллоидами по 800 мл в сутки, тиамин в дозе 50 мг в сутки внутримышечно, бромдигидрохлорфенилбензодиазепин в дозе 4 мг в сутки внутримышечно, галоперидол в дозе 5 мг внутримышечно разово. В течение последующих 6 сут пациент в дневное время был астенизирован, большую часть времени проводил в кровати, но по вечерам у него отмечалось психомоторное возбуждение, иногда он путался в датах и местонахождении, но после наводящих вопросов давал правильные ответы. Пациенту дополнительно с целью седации разово назначен галоперидол в дозе 5 мг внутримышечно на 2-е сутки отмены алкоголя и дроперидол в дозе 5 мг внутримышечно на 5-е сутки отмены. На 6-е сутки состояние пациента ухудшилось: с утра наблюдались помрачение сознания, грубая дезориентация во времени и пространстве, психомоторное возбуждение. Видел «вокруг себя пауков», сообщил, что чувствует, как по его телу «ползают клещи и кусают его за ноги». Обмотал ноги одеялом, чтобы

«спастись от укусов». Был диагностирован «синдром отмены алкоголя с делирием, F10.40».

В данном случае необходимо отметить, что состояние пациента при поступлении действительно было трудно дифференцировать, так как СОА у него сочетался с интоксикацией фенобарбиталом. Именно поэтому психоз явно манифестировал только на 6-е сутки отмены, но гипокалиемия была выявлена уже в первые сутки и служила предиктором будущего ДЕЛ. Данный пациент был исключен из исследования после получения результатов химико-токсикологических исследований, тем не менее клинический пример достаточно интересный.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проспективное исследование подтвердило заявленную в нашей предыдущей работе прогностическую значимость уровня калия в крови как предиктора развития ДЕЛ у пациентов с алкогольной зависимостью, что свидетельствует о наличии тесной связи между патогенезом ДЕЛ и нарушениями электролитного обмена. Существует зависимость между приемом алкоголя и уровнем калия — этанол специфически взаимодействует с калиевыми каналами внутреннего выпрямления (GIRK3). Калий после такого взаимодействия выходит из клетки, что приводит к гиперполяризации клеточной мембраны и, соответственно, к повышению потенциала покоя [7]. Клинически это проявляется в виде седации. Употребление алкоголя также сопровождается увеличением диуреза (по причине ингибирования этанолом продукции антидиуретического гормона) и снижением концентрации в крови основных электролитов (калия, натрия и хлоридов) [8]. При длительной алкогольной интоксикации (запоях) у пациентов с ДЕЛ потеря электролитов становится существенной [9]. Это приводит к нарушению градиентов концентрации натрия и калия между клеточным и межклеточным пространствами и, как следствие, к уменьшению потенциала покоя нейронов. При снижении уровня кальция очень значительно уменьшается потенциал покоя, при этом натриевые каналы активируются. В условиях недостатка ионов кальция натриевые каналы активируются при очень небольшом повышении мембранного потенциала от нормы [10]. Эти процессы клинически проявляются сверхвозбудимостью нервной системы и, следовательно, повышением риска развития судорожных припадков, нарушений ритма сердца, психозов.

В результате проведенного нами исследования было установлено, что, в отличие от пациентов с ДЕЛ, у пациентов с АПР уровни калия и натрия крови становятся относительно высокими. Мы можем предположить, что это связано с большей, возможно генетически обусловленной, эффективностью компенсаторных механизмов, направленных на удержание электролитов в организме. Именно поэтому возбуждение при АПР носит локальный характер, судорожные припадки и поражение сознания

для них нехарактерны. Данная гипотеза объясняет и относительно меньшую представленность ДЕЛ у женщин (у которых преимущественно регистрируют АПР). Получает объяснение и большая распространенность ДЕЛ среди пожилых пациентов, обусловленная недостаточностью механизмов компенсации электролитных потерь, возникших вследствие употребления алкоголя.

## ВЫВОДЫ

1. Уровни калия, натрия и количество тромбоцитов у пациентов группы ДЕЛ статистически значимо отличались от аналогичных показателей пациентов групп НСОА и АПР.
2. Уровень кальция в крови статистически значимо различался между группами НСОА и ДЕЛ.
3. Женщины менее чувствительны к метаболическим расстройствам, развивающимся вследствие употребления алкоголя, что проявляется в меньшей частоте ДЕЛ.
4. Большая распространенность ДЕЛ среди пожилых пациентов обусловлена декомпенсацией у них механизмов регуляции метаболизма.
5. Предиктивная модель развития ДЕЛ, основанная на результатах исследования уровня калия крови, доказала свою эффективность в условиях клинического применения.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. *С.И. Уткин, О.Ж. Бузык, А.А. Бурцев* — написание статьи, анализ данных; *С.И. Уткин* — разработка общей концепции.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Информированное согласие на публикацию.** Авторы получили письменное согласие пациентов на публикацию медицинских данных.

## ADDITIONAL INFORMATION

**Authors contribution.** Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study. *S.I. Utkin, O.Z. Buzik, A.A. Burtsev* — manuscript drafting, writing and pilot data analyses; *S.I. Utkin* — general concept discussion.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Consent for publication.** Written consent was obtained from the patients for publication of relevant medical information within the manuscript.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Здравоохранение в России 2023. Статистический сборник / под ред. С.Н. Климаева, В.В. Гарина, И.В. Медведевой. Москва, 2023. 179 с.
2. Airagnes G., Ducoutumany G., Laffy-Beaufils B., et al. Alcohol withdrawal syndrome management: Is there anything new? // *Rev Med Interne*. 2019. Vol. 40, N 6. P. 373–379. doi: 10.1016/j.revmed.2019.02.001
3. Schuckit M.A. Recognition and management of withdrawal delirium (delirium tremens) // *N Engl J Med*. 2014. Vol. 371, N 22. P. 2109–2113. doi: 10.1056/NEJMra1407298
4. Soyka M. Prevalence of alcohol-induced psychotic disorders // *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2008. Vol. 258, N 5. P. 317–318. doi: 10.1007/s00406-008-0767-1
5. Perälä J., Kuoppasalmi K., Pirkola S., et al. Alcohol-induced psychotic disorder and delirium in the general population // *Br J Psychiatry*. 2010. Vol. 197, N 3. P. 200–206. doi: 10.1192/bjp.bp.109.070797
6. Уткин С.И., Бузик О.Ж., Дюжев Д.В. Объективные предикторы развития алкогольного делирия на основе физиологических и метаболических показателей // *Вопросы наркологии*. 2021. № 12. С. 17–30. EDN: AYLAHW doi: 10.47877/0234-0623\_2021\_12\_17
7. Bodhinathan K., Slesinger P.A. Molecular mechanism underlying ethanol activation of G-protein-gated inwardly rectifying potassium channels // *PNAS USA*. 2013. Vol. 110, N 45. P. 18309–18314. doi: 10.1073/pnas.1311406110
8. Rubini M.E., Kleeman C.R., Lamdin E. Studies on alcohol diuresis. I. The effect of ethyl alcohol ingestion on water, electrolyte and acid-base metabolism // *J Clin Invest*. 1955. Vol. 34, N 3. P. 439–447. doi: 10.1172/JCI103092
9. Liamis G.L., Milionis H.J., Rizos E.C., et al. Mechanisms of hyponatraemia in alcohol patients // *Alcohol Alcohol*. 2000. Vol. 35, N 6. P. 612–616. doi: 10.1093/alcalc/35.6.612
10. Alberts B. *Molecular biology of the cell*. 6th ed. Garland Science, 2015. 1465 p.

## REFERENCES

1. Klimaev SN, Garin VV, Medvedeva IV, editors. *Health care in Russia 2023. Statistical compendium*. Moscow, 2023. 179 p. (In Russ.)
2. Airagnes G, Ducoutumany G, Laffy-Beaufils B, et al. Alcohol withdrawal syndrome management: Is there anything new? *Rev Med Interne*. 2019;40(6):373–379. doi: 10.1016/j.revmed.2019.02.001
3. Schuckit MA. Recognition and management of withdrawal delirium (delirium tremens). *N Engl J Med*. 2014;371(22):2109–2113. doi: 10.1056/NEJMra1407298
4. Soyka M. Prevalence of alcohol-induced psychotic disorders. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2008;258(5):317–318. doi: 10.1007/s00406-008-0767-1
5. Perälä J, Kuoppasalmi K, Pirkola S, et al. Alcohol-induced psychotic disorder and delirium in the general population. *Br J Psychiatry*. 2010;197(3):200–206. doi: 10.1192/bjp.bp.109.070797
6. Utkin SI, Buzik OZh, Dyuzhev DV. Objective predictors for delirium tremens based on physiological and metabolic indicators. *Journal of addiction problems*. 2021;(12):17–30. EDN: AYLAHW doi: 10.47877/0234-0623\_2021\_12\_17
7. Bodhinathan K, Slesinger PA. Molecular mechanism underlying ethanol activation of G-protein-gated inwardly rectifying potassium channels. *PNAS USA*. 2013;110(45):18309–18314. doi: 10.1073/pnas.1311406110
8. Rubini ME, Kleeman CR, Lamdin E. Studies on alcohol diuresis. I. The effect of ethyl alcohol ingestion on water, electrolyte and acid-base metabolism. *J Clin Invest*. 1955;34(3):439–447. doi: 10.1172/JCI103092
9. Liamis GL, Milionis HJ, Rizos EC, et al. Mechanisms of hyponatraemia in alcohol patients. *Alcohol Alcohol*. 2000;35(6):612–616. doi: 10.1093/alcalc/35.6.612
10. Alberts B. *Molecular biology of the cell*. 6th ed. Garland Science, 2015. 1465 p.

## ОБ АВТОРАХ

**\*Сергей Ионович Уткин**, канд. мед. наук, доцент; Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119048, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2; ORCID: 0000-0001-7867-1830; eLibrary SPIN: 5153-6237; e-mail: utkin\_s\_i\_1@staff.sechenov.ru

**Олег Жанович Бузик**, д-р мед. наук, профессор. ORCID: 0000-0001-9470-6781; eLibrary SPIN: 7140-5795; e-mail: buzic58@bk.ru

**Александр Александрович Бурцев**, канд. мед. наук. ORCID: 0000-0003-2710-1285; eLibrary SPIN: 3639-8319; e-mail: burtsev@mail.ru

## AUTHORS INFO

**\*Sergey I. Utkin**, MD, Cand. Sci. (Medicine), Assistant Professor; Sechenov University, Moscow 119048, Trubetskaya street, 8, Bild 2; ORCID: 0000-0001-7867-1830; eLibrary SPIN: 5153-6237; e-mail: utkin\_s\_i\_1@staff.sechenov.ru

**Oleg Zh. Buzik**, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor. ORCID: 0000-0001-9470-6781; eLibrary SPIN: 7140-5795; e-mail: buzic58@bk.ru

**Aleksandr A. Burtsev**, MD, Dr. Sci. (Medicine). ORCID: 0000-0003-2710-1285; eLibrary SPIN: 3639-8319; e-mail: burtsev@mail.ru

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

УДК 612.017(092) Зарубина

## Талантливый биохимический фармаколог профессор Ирина Викторовна Зарубина

### Talented biochemical pharmacologist Professor Irina V. Zarubina



Творческая биография Ирины Викторовны Зарубиной не особенно замысловата, поскольку практически вся ее трудовая деятельность связана с Военно-медицинской академией им. С.М. Кирова Минобороны России. Она родилась в 1954 г. в Ленинграде. Рано определилась со специальностью, решив, что станет либо биологом, либо биохимиком. Без особого труда поступила в Ленинградский государственный университет на биолого-почвенный факультет. Уже на первых курсах в качестве специальности выбрала биохимию энергетического обмена как ведущее направление будущей деятельности. И в 1977 г., сразу же после окончания университета, была приглашена на кафедру патологической физиологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова возглавлявшим тогда кафедру академиком АМН СССР профессором В.К. Кулагиным, крупным специалистом в области шоковых состояний.

Одного страстного желания заниматься исследовательской работой для молодого специалиста было недостаточно, на первых порах не хватало общемедицинских знаний и специальных методических приемов, которые нужно было освоить в короткие сроки. Для молодого специалиста И.В. Зарубиной патофизиология тяжелой травмы и шока, которой нужно было заниматься, была где-то далеко и не совсем понятна, ведь ее как будущего биохимика больше учили работать с тканями, с химическими реактивами, с лабораторными приборами специального назначения. И для лучшего понимания сути научной проблемы, естественно, ей пришлось начинать с азов и прослушать полный цикл лекций по патологической физиологии, которые читал и сам профессор В.К. Кулагин, и ведущие сотрудники кафедры, а главное, освоить навыки вивисекции разных животных (кроликов, собак, крыс), столь необходимые и для работы, и для подготовки уникальных лекционных демонстраций, которые в тот период были неотъемлемой частью любой лекции. И.В. Зарубиной была поручена в том числе и эта ответственная работа.

Так, лекции по теме «Патофизиология сердечно-сосудистой системы» сопровождалась демонстрацией приспособительных реакций и острых повреждений сердечно-сосудистой системы, моделируемых на собаке. Чтобы получить представление о тоногенной (приспособительной) и миогенной (патологической) дилатации миокарда собаку интубировали и переводили на искусственную вентиляцию легких, осуществляли

торакотомию, через канюлю Фохта в перикардиальной сумке регистрировали амплитуду сердечных сокращений. На лекции по теме «Терминальные состояния и оживление организма» курсанты могли видеть, как острая кровопотеря у собаки приводит к клинической смерти и регистрировали ее признаки — апноэ, асистолию и арефлексию. После чего демонстрировали комплекс первичной сердечно-легочной реанимации с применением искусственного дыхания, прямого массажа сердца и дефибрилляции. Для лучшего освоения материала по теме «Патофизиология почек» моделировали на собаке проявления преренальной и постренальной недостаточности (болевая анурия, артериальная ишемия и венозная гиперемия почек, стеноз мочеточников). Все полученные навыки не просто пригодились молодому специалисту И.В. Зарубиной в дальнейшей работе, но формировали новое и во многом передовое научное мировоззрение, состоящее в том, что без должной и адекватной модели патологического состояния никак не понять суть биохимических процессов, при этом состоянии происходящих.

В эти годы на кафедру поступала новейшая техника, в том числе японский спектрофлуориметр с приставкой для тонкослойной хроматографии. И.В. Зарубина разработала оригинальный микрометод флуориметрического определения аденин-нуклеотидов, а опубликованная в центральной печати статья, описывающая этот методический прием, получила широкий научный отклик ученых страны и зарубежья, как сейчас сказали бы, имела «высокий индекс цитирования».

Уже через год работы на кафедре патологической физиологии академии профессор В.К. Кулагин определил тему будущей кандидатской диссертации И.В. Зарубиной «Метаболическая активность печени в раннем периоде синдрома длительного раздавливания». Тема важная и мало разработанная в то время, во многом инспирированная землетрясением в Ташкенте 1976 г. Но только после тяжелейших катастроф, таких как землетрясение в Спитаке (Армения) 1988 г., с массовой гибелью людей и большим количеством пострадавших от сдавливания конечностей и частей тела обрушающимися фрагментами бетонных строений, выбранная тема зазвучала по-новому, как актуальная и важная для изучения и практического решения. А в жизни И.В. Зарубиной наступило время трудоемких и длительных опытов. В эксперименте травматический токсикоз она моделировала наложением на мягкие ткани бедра животных (крыс)

специальных тисков в течение четырех часов, после чего забирала ткани для исследования метаболических изменений в динамике травматического шока — через 4, 6, 12 и 24 ч после декомпрессии. Полученные тогда данные были во многом уникальны, и такие исследования выполнены впервые в мире. В 1989 г. И.В. Зарубина успешно защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук под руководством профессора Ю.Н. Шанина, возглавившего кафедру патологической физиологии академии после неожиданной для всех и явно преждевременной смерти профессора В.К. Кулагина, инициатора направления исследований И.В. Зарубиной.

Патофизиологи академии всегда тесно сотрудничали с кафедрой фармакологии, которую в то время (1968–1987) возглавлял профессор В.М. Виноградов и позже его ученик профессор А.В. Смирнов (1988–2000). Проблемы фармакологической поддержки при экстремальных состояниях всегда интересовали И.В. Зарубину, поэтому в 1990 г. она перешла в качестве старшего научного сотрудника на кафедру фармакологии академии. И последующие годы во многом были посвящены реализации научных идей В.М. Виноградова, основоположника и разработчика нового фармакологического класса антигипоксантов и актопротекторов. Погружение в изучение проблемы защиты от кислородной недостаточности дали толчок новому увлечению Ирины Викторовны — горному туризму. Несколько лет И.В. Зарубина поднималась на разные высоты Эльбруса, посещала Эльбрусскую медико-биологическую станцию, продолжая фундаментальные исследования гипоксии, начатые в горах Эльбруса еще в 1929 г. выдающимся отечественным патофизиологом академиком Н.Н. Сиротининым. Предложенная И.В. Зарубиной концепция адаптогенного энергетического оптимума биохимических процессов при гипоксии легла в основу ее докторской диссертации, с блеском защищенную в стенах академии в 2000 г. Научным консультантом по докторской диссертации И.В. Зарубиной выступил профессор А.В. Смирнов, специалист в области биохимической фармакологии гипоксии (антигипоксантов) и утомления (актопротекторов).

С 2000 г., с приходом на кафедру профессора П.Д. Шабанова (возглавлял кафедру в 2000–2022 гг.), для И.В. Зарубиной начался новый этап научной деятельности. Группа биохимической фармакологии во главе с И.В. Зарубиной не просто активно включилась в работу по изучению базисных механизмов коррекции гипоксии, но и сделала мощный рывок и, соответственно, крупный научный вклад в эту проблему в части изучения фармакологической нормализации энергетического обмена, существенно страдающего при гипоксии разного генеза и патологических состояниях, протекающих с гипоксическим компонентом в их развитии (травматический шок, синдром длительного сдавления, хроническое воспаление и т. д.). Итогом этих работ стала публикация ряда монографий, в их числе «Молекулярной фармакологии антигипоксантов» (2004), «Гипоксия и карнитин» (2004), «Антигипоксанты при черепно-мозговой травме» (2006), «Метаболические корректоры гипоксии» (2012), «Травматический токсикоз и антигипоксанты» (2014), в которых описаны принципы метаболической коррекции гипоксии и аналогичных патологических состояний. Кроме того, в эти годы

И.В. Зарубина была официально признана как руководитель военной научной школы «Фармакология экстремальных состояний» (2004). По материалам указанных исследований учениками И.В. Зарубиной подготовлены и успешно защищены 2 диссертации на соискание ученой степени доктора и 7 на соискание ученой степени кандидата наук. В 2009 г. И.В. Зарубиной присвоено ученое звание профессора.

За годы научно-исследовательской работы И.В. Зарубиной опубликовано более 400 научных статей в ведущих отечественных и зарубежных журналах. На протяжении нескольких лет И.В. Зарубина являлась ответственным исполнителем нескольких научных тем по заказу Главного военно-медицинского управления Минобороны России, одна из которых, посвященная разработке новых анальгетиков, заняла призовое место в конкурсе «Научно-исследовательские темы научно-педагогических работников 2017–2018 гг.».

И.В. Зарубина активно передает свой опыт молодым исследователям, выполняя функции не только наставника, но и реального научного экзаменатора. Она в течение многих лет была членом диссертационных советов по защите докторских и кандидатских диссертаций по научной специальности «фармакология, клиническая фармакология» в академии и Институте экспериментальной медицины. Кроме того, И.В. Зарубина является членом редколлегии отечественных журналов «Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии», «Психофармакология и биологическая наркологию» и «Разработка и регистрация лекарственных средств».

С 2015 г. И.В. Зарубина занимается научными изысканиями, педагогической деятельностью в качестве лектора и преподавателя фармакологии на кафедре фармакологии академии. На ее лекциях, практических занятиях и экзаменах царит благоприятная и доброжелательная учебная атмосфера. И.В. Зарубина умеет увлечь курсантов и студентов своими знаниями, учит мыслить, не жалеет времени для помощи освоения курса фармакологии. Известно, что методы обучения — это душа занятия. И профессор И.В. Зарубина использует новые информационные технологии в своей профессиональной деятельности. Ее лекционные презентации вызывают интерес у курсантов и студентов, поскольку наглядны, содержательны, логичны и передают информацию максимально эффективно. Нарботанные И.В. Зарубиной за годы преподавания методические приемы в полной мере раскрываются в открытых уроках, инструкторско-методических и показных занятиях.

И.В. Зарубина не только блестящий ученый и педагог, но и доброжелательная мать и бабушка. Ее сын Дмитрий Валерьевич — специалист в области IT-технологий, а внук и внучка — учащиеся средней школы, которые охотно и много проводят свободного времени со своей бабушкой.

Редакционная коллегия журнала желает Ирине Викторовне здоровья, дальнейших творческих успехов во всех ее начинаниях, внимания, доброжелательности и поддержки со стороны семьи и сотрудников кафедры фармакологии академии.

Профессор П.Д. Шабанов,  
главный редактор журнала, март, 2024 г.