

# Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 2(20)

2018 г.

## Учредитель

Государственное учреждение  
«Республиканский научно-  
практический центр  
радиационной медицины  
и экологии человека»

**Журнал включен в** Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)

## Журнал зарегистрирован

Министерством информации  
Республики Беларусь,  
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 28.09.18  
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.  
Гарнитура «Times New Roman».  
Печать цифровая. Тираж 200 экз.  
Усл. печ. л. 16,5. Уч.-изд. л. 9,13.  
Зак. 69.

Издатель ГУ «Республиканский  
научно-практический центр  
радиационной медицины и  
экологии человека»  
Свидетельство N 1/410 от 14.08.2014

Отпечатано в КУП  
«Редакция газеты  
«Гомельская праўда»  
г. Гомель, ул. Полесская, 17а

ISSN 2074-2088

## Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., доцент)

## Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., профессор, зам. гл. редактора),  
В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), Н.Г. Власова (д.б.н., доцент, научный редактор),  
А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Вейкин (к.б.н., доцент),  
А.В. Воропаева (к.м.н., доцент), В.В. Евсеенко (к.пс.н.),  
С.В. Зыблева (к.м.н., отв. секретарь), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), И.Н. Коляда (к.м.н.), А.В. Коротаев (к.м.н., доцент), А.Н. Лызикив (д.м.н., профессор), А.В. Макавич (к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор),  
Я.Л. Навменова (к.м.н.), Э.А. Надзыров (к.м.н., доцент),  
И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент), И.П. Ромашевская (к.м.н.), М.Г. Русаленко (к.м.н.),  
А.П. Саливончик (к.б.н.), А.Е. Силин (к.б.н.), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), А.Н. Цуканов (к.м.н.), Н.И. Шевченко (к.б.н., доцент), Ю.И. Ярец (к.м.н., доцент),

## Редакционный совет

В.И. Жарко (Минск), А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск), С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва), Е.Л. Богдан (Начальник Главного управления организации медицинской помощи МЗ РБ, Минск), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Г. Кручинский (д.м.н., Пинск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), Д.Л. Пиневиц (Первый заместитель министра здравоохранения РБ, Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Д. Тронько (д.м.н., профессор, Киев), В.А. Филонюк (к.м.н., доцент, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск), В.Е. Шевчук (к.м.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

## Технический редактор

С.Н. Никонович

**Адрес редакции** 246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,

ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала

тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97

http://www.mbp.rcrm.by e-mail: mbp@rcrm.by

© Государственное учреждение

«Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», 2018

№ 2(20)

2018

# Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

## **Founder**

Republican Research Centre  
for Radiation Medicine  
and Human Ecology

Journal registration  
by the Ministry of information  
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre  
for Radiation Medicine  
and Human Ecology

**ISSN 2074-2088**

**Обзоры и проблемные статьи**

**Е.С. Пашинская, В.В. Поляржин, В.М. Семенов**

Роль микроРНК одноклеточных типа *Apicomplexa* в системе паразит-хозяин (обзор литературы)

6

**Медико-биологические проблемы**

**И.В. Веялкин, С.Н. Никонович, А.А. Чешик, А.В. Рожко**

Заболеваемость злокачественными новообразованиями детей, рожденных в семьях родителей, облученных вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС, в Республике Беларусь

17

**Н.Г. Власова**

Оценка средней годовой эффективной дозы внешнего облучения жителей населенных пунктов Республики Беларусь для зонирования территории

25

**Ж.А. Гладкова, Н.Е. Алейникова, Т.Е. Кузнецова, А.В.Бойко, В.В.Пономарев, А.М. Устемчук, Д.Б. Нижегородова**

Ротеноновые модели синдрома паркинсонизма *in vivo*.

31

**Е.Ф. Мицура, Л.И. Волкова**

Наследственный сфероцитоз в структуре гемолитических анемий у детей и его клиническое течение в Республике Беларусь

39

**А.Е. Силин, Д.К. Новик, В.Н. Мартинков, В.В. Кошкевич, А.В. Воропаева, А.А. Силина, И.Б. Тропашко, С.М. Мартыненко**

Молекулярно-генетическая диагностика Ph-негативных хронических миелопролиферативных заболеваний

45

**Р.К. Спиров, А.Н. Никитин**

Конверсионные дозовые коэффициенты трансураниевых элементов для растений зоны отчуждения Чернобыльской АЭС

52

**Reviews and problem articles**

**E.S. Pashinskaya, V.V. Pabiarzhyn, V.M. Semenov**

The role of single-celled Apicomplexa microRNAs to the parasite-host system

**Medical-biological problems**

**I.V. Veyalkin, S.N. Nikonovich, A.A. Cheshik, A.V. Rozhko**

The cancer incidence in children born of parents affected by Chernobyl disaster in the Republic of Belarus

**N.G. Vlasova**

Assessment of the average annual effective external exposure doses of the settlements of the Republic of Belarus for territory zoning

**Z.A. Hladkova, N.Y. Aleinikava, T.Y. Kuznetsova, A.V. Boika, V.V. Ponomarev, A.M. Ustiamchuk, D.B. Nizheharodava**

Rotenon models of parkinsonism syndrome *in vivo*

**E.F. Mitsura, L.I. Volkova**

Hereditary spherocytosis in the structure of hemolytic anemia in children and its clinical course in the Republic of Belarus

**A.Silin, D. Novik, V. Martinkov, V. Koshkevich, A. Voropaeva, A. Silina, I. Tropashko, S. Martynenko**

Molecular genetic testing of Ph-negative chronic myeloproliferative diseases

**R.K. Spirov, A.N. Nikitin**

Conversion dose coefficients of transuranium elements for plants in the exclusion zone of the Chernobyl NPP

**Клиническая медицина****Clinical medicine**

**А.В. Величко, В.В. Похожай, З.А. Дундаров, С.Л. Зыблев**

Клинико-экономическое обоснование использования новых алгоритмов диагностики и хирургического лечения пациентов с первичным гиперпаратиреозом 58

**С.В. Зыблева, С.Л. Зыблев, О.П. Логинова, М.Г. Шитикова, А.В. Величко, Б.О. Кабешев, Д.Л. Дугин, Е.М. Бредихин, Е.А. Сви-  
стунова**

Диагностикум для оценки иммунологической реактивности при трансплантации почки 66

**А.Г. Карапетян**

Оценка функционального состояния дыхательной системы у армянских ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС 72

**Ф.Л. Кутарев, С.А. Игумнов**

Особенности социального функционирования лиц, злоупотребляющих алкоголем 78

**А.Б. Малков**

Доклиническая диагностика дистальной диабетической полинейропатии нижних конечностей 84

**Л.П. Мамчиц**

Территориально-временная характеристика заболеваемости туберкулезом населения Гомельской области в пост-чернобыльский период 92

**О.В. Пархоменко, Э.А. Повелица, В.А. Доманцевич, В.Н. Подгайский, А.М. Шестерня**

Артериальный тромбоз эпигастрико-пенильного анастомоза после реконструктивных операций при артериогенной эректильной дисфункции 99

**А.С. Подгорная, А.Ю. Захарко, Н.Н. Шибяева, А.И. Козлова, Л.П. Коршунова, А.В. Марченко, О.В. Мурашко**

Тамоксифен-индуцированная патология эндометрия 105

**A.V. Velichko, V.V. Pokhozhay, Z.A. Dundarov, S.L. Zyblev**

Clinical and economic substantiation of the use of new algorithms of diagnostics and surgical treatment of patients with primary hyperparathyroidism

**S. Zybleva, S. Zyblev, O. Loginova, M. Shytikova, A. Velichko, B. Kabeshev, D. Dugin, E. Bredyhin, A. Svistunova**

Diagnosticum for assessment of immunological reactivity at kidney allotransplantation

**A.G. Karapetyan**

Evaluation of the respiratory system functional state in the Armenian liquidators of Chernobyl NPP accident

**F. L. Kutarev, S.A. Igumnov**

Peculiarities of social functioning of the alcohol abusers

**A. Malkov**

Preclinical diagnostics of distal diabetic polyneuropathy of lower extremities

**L.P. Mamchits**

Territorial-time characteristics of the incidence of tuberculosis Gomel region population in the post-chernobyl period

**O.V. Parhomenko, E.A. Povelitsa, V.A. Domantsevich, V.N. Podgaysky, A.M. Shesternya**

Arterial thrombosis of epigastric-penile anastomosis after reconstructive operations with arteriogenic erectile dysfunction

**A. Podgornaya, A. Zakharko, N. Shybaeva, A. Kozlova, L. Korshunova, A. Marchenko, O. Murashko**

Tamoxifen-induced endometrial pathology

**Н.Н. Усова, А.Н. Цуканов, А.П. Савостин,  
М.Л. Струк**

Терапевтические возможности Тио-  
колхикозида при болях в спине

112

**N.N. Usova, A.N. Tsukanov, A.P. Savostin,  
M.L. Struk**

Therapeutic possibilities of Thiocolchico-  
side for back pain

### ***Обмен опытом***

### ***Experience exchange***

**О.К. Доронина, Э.Н. Дейлидко**

Основные методы диагностики храни-  
ческого эндометрита у женщин с бес-  
плодием

118

**O. Doronina, E. Dailidka**

The main methods of diagnostics of  
chronic endometritis in women with in-  
fertility

**С.А. Цуканова, А.В. Жарикова, А.Н. Цука-  
нов, О.В. Кобылко**

Мультифокальная моторная невропа-  
тия: клинический случай из практики

123

**S.A. Tsukanova, A.V. Zharikova, A.N. Tsu-  
kanov, O.V. Kobylko**

Multifocal motor neuropathy: clinical  
case from practice

## РОТЕНОНОВЫЕ МОДЕЛИ СИНДРОМА ПАРКИНСОНИЗМА *IN VIVO*.

<sup>1</sup>ГНУ «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Беларусь

<sup>2</sup>ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Беларусь

Создание различных моделей паркинсонического синдрома (ПС) *in vivo* и *in vitro* необходимо для разработки новых методов терапии болезни Паркинсона (БП). Целью исследования явилось получение токсических экспериментальных моделей ПС у крыс с использованием различных путей и доз введения ротенона. Изучались модели ПС, основанные на подкожном, стереотаксическом и интраназальном введении ротенона. Для светооптического исследования срезы окрашивали тионином и метиленовым синим по Нисслю и гематоксилин-эозином. В группе интраназального введения ротенона, в отличие от групп с подкожным и стереотаксическим введением, не было выявлено явных визуальных изменений неврологического статуса. Получены морфологические признаки развития ПС. Полученные нами модели ПС пригодны для изучения эффективности экспериментальных методов терапии БП.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, синдром паркинсонизма, моделирование, ротенон

### Введение

Болезнь Паркинсона (БП) – хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание с участием механизмов нейровоспаления. Патоморфологическая основа БП – частичная потеря преимущественно дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга и накопление внутриклеточных белковых включений в выживших нейронах – тельца Леви (Lewy bodies, LBs) и нейриты Леви (Lewy neurites, LNs). Паркинсонический синдром (ПС) – это близкий по клиническим проявлениям к БП симптомокомплекс, который является проявлением ряда неврологических заболеваний различной этиологии: собственно БП вторичного (сосудистого, лекарственного, травматического, токсического и др.) паркинсонизма, а также различных форм мультисистемной дегенерации. Несмотря на различия в этиологии, патоморфологическая основа всех форм ПС одинакова – нейродегенератив-

ный процесс, преобладающий в базальных ядрах [1].

Основная проблема исследования патогенеза БП связана с невозможностью фиксировать процессы, протекающие в живых клетках человека, из-за невозможности широкого использования прижизненного забора биоматериала у пациентов. Решение этой проблемы осуществляется во всем мире путем создания моделей ПС *in vivo* (на лабораторных животных) и *in vitro* («в пробирке»). Наиболее приближенными к процессам в нервной системе человека являются модели *in vivo*. Среди методов моделирования ПС *in vitro* главным образом используются модели с применением экзогенных (ротенон, паракват и др.) и эндогенных (6-гидроксидофамин и др.) нейротоксинов [2]. Используются культуры нейронов, астроцитов и клеток микроглии, контактирующие друг с другом посредством нейрон-глиальных взаимодействий и поддерживающие гомеостаз головного мозга. К методам моделирования БП

*in vivo* относятся генетические (нокаутные и трансгенные модели), нейротоксические модели (системное и стереотаксические введения), а также воспалительные модели с активацией иммунитета (использование липополисахаридов) [3]. Классическими объектами для моделирования ПС *in vivo* являются грызуны – мыши и крысы, кроме того, используется моделирование на рыбах, кроликах, морских свинках и приматах. Помимо экономической составляющей преимущественное использование грызунов основано на том, что именно у них происходит максимально избирательное повреждение нигростриатных путей с дегенерацией дофаминергических нейронов и снижением уровня дофамина в стриатуме [4]. Это формирует характерные для ПС двигательные расстройства: акинезия, ригидность, гипомимия, тремор покоя, феномен застывания [2].

К настоящему времени разработано несколько схем системного введения нейротоксических препаратов – острая, подострая и хроническая. Важным отличием острых и подострых моделей ПС является механизм гибели ДА-эргических нейронов. Предполагается, что при остром введении токсина гибель нейронов происходит путем некроза [4, 5], в то время как при подострой схеме введения нейротоксина гибель нейронов происходит путем апоптоза [6]. Используя различные дозы и кратность введения, возможно моделировать скорость развития нейродегенеративного процесса. Так при локальном стереотаксическом введении нейротоксинов внутрь желудочковой системы или в ткань мозга можно говорить о развитии острого ПС. В то же время длительное системное введение нейротоксинов позволяет приблизить модель к формированию хронического нейродегенеративного процесса, что наиболее соответствует течению классической БП.

Для создания нейротоксических моделей на лабораторных животных используют разные химические вещества, вызывающие дегенерацию нигростриатной ДА-эргической системы [7] и воспроизво-

дящие различные морфологические, биохимические и клинические признаки БП. Среди всех известных экспериментальных моделей ПС особое внимание заслуживает модель с хроническим системным введением ротенона – пестицида и мощного ингибитора митохондриального комплекса. Несмотря на диффузный характер воздействия, ротенон вызывает селективную дегенерацию нигростриатного пути с образованием в клетках черной субстанции а-синуклеинпозитивных включений, сходных с тельцами Леви [8], воспроизводя таким образом большинство клинических и патогенетических признаков БП. Подобные изменения обнаружены на моделях с хроническим системным введением ротенона у крыс, что позволяет в эксперименте изучать клеточно-молекулярные механизмы развития данной патологии. Основными недостатками модели является ее трудоемкость, широкая вариабельность получаемых результатов, токсическое поражение органов, отсутствие «золотого стандарта» методики ее проведения, а также высокая смертность лабораторных животных, которая согласно современным литературным данным достигает 50-70% [3].

Не менее широко применяются модели со стереотаксическим введением ротенона непосредственно в область черной субстанции головного мозга [9, 10]. При таком пути введения наблюдается отсроченное и медленное развитие поражений, что свидетельствует об избирательном и последовательном этапе вовлечения нейронов в нейродегенеративные процессы. Данная модель имеет целый ряд технических сложностей, связанных с введением нейротоксина в мозг и большого риска развития осложнений, однако при ее использовании есть возможность оценить динамику компенсаторных и нейропротективных резервов организма. Также при стереотаксическом введении ротенона отсутствует токсическое поражение внутренних органов, которое наблюдается при его подкожном введении. Учитывая, что в данной модели наблюдается низкая вариабельность кли-

нических проявлений, наиболее объективным при оценке результатов является морфологический контроль. Недостаточно изученной остается модель, при которой ротенон вводится интраназально [11]. Создание адекватной экспериментальной модели ПС является важным этапом разработки новых методов терапии неврологических заболеваний, включая использование клеточных технологий.

**Цель.** Получение токсических экспериментальных моделей ПС у крыс с использованием различных путей и доз введения ротенона.

### **Материал и методы исследования**

Экспериментальные данные получены в опытах на белых крысах, которые содержались в стандартных условиях вивария (температура воздуха  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , вентиляционный режим 30 мин/ч) при свободном доступе к воде и пище, на одинаковом рационе в соответствии с нормами содержания лабораторных животных, с соблюдением светового и шумового режимов. Эксперимент начинали в одно и то же время суток – утром, учитывая хронобиологическую зависимость большинства физиологических и биохимических процессов в организме крысы. Индивидуальная идентификация – окраска различных участков шерстного покрова спиртовым раствором пикриновой кислоты.

Для оценки тяжести постепенно развивающегося ПС у крыс проводили общий осмотр для выявления следующих признаков паркинсонизма: а) ригидность мышц по симптому «горбатости» спины; б) выявление постуральной нестабильности.

Оценка всех параметров производилась по 3-балльной шкале. Тесты проводили до введения и на 3-е, 7-е, 14-е и 28-е сутки после введения ротенона.

Все исследования с животными выполнялись в соответствии с международными правилами и нормами обращения с лабораторными животными, не противоречащими Женевской конвенции 1985 г. о «Международных принципах биомедицинских ис-

следований с использованием животных» и в соответствии с Техническим кодексом установившейся практики 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика». Проведение исследования было одобрено этическим комитетом ГУО БелМАПО (протокол №3 от 02.10.2017г.).

**Модель паркинсонического синдрома *in vivo* при интраназальном введении ротенона.** Опыты проведены на крысах-самцах линии Wistar массой тела 300-320 г ( $n=21$ ). Раствор ротенона (Rotenone, Sigma-Aldrich Cheme; lot № R8875-1G, концентрация 0,5 мг/мл), полиэтиленгликоль 200 (ПЭГ) и диметилсульфоксид (ДМСО) 50% (Dimethylsulfoxid, Roth; lot № A994.1) в соотношении 1:1:1, вводили интраназально (и/н) в объеме 20 мкл: по 10 мкл в каждую носовую полость ежедневно в одно и то же время в течение 30 дней. В качестве контроля интраназально инстиллировали растворитель в дозе 20 мкл, состоящий из полиэтиленгликоля, диметилсульфоксида 50% в соотношении 1:1 (ПЭГ:ДМСО). Раствор ДМСО данной концентрации получали путем смешивания одной части ДМСО и одной части стерильной воды для инъекций (ОАО «Боримед» годен до 01.19).

В течение всего эксперимента и через 30 дней после его окончания не зафиксировано гибели животных.

**Модель паркинсонического синдрома *in vivo* при системном подкожном введении ротенона.** Экспериментальные данные получены в опытах на белых беспородных крысах массой тела 250-350 г ( $n=80$ ). Ротенон предварительно растворяли в 99% ДМСО: 20% Lipovenos в соотношении 1:1 и вводили 4 раза в неделю в межлопаточную область экспериментальных животных в минимальной рекомендуемой дозе (2,0 мг/кг массы тела животного).

**Модель паркинсонического синдрома *in vivo* со стереотаксическим интрацеребральным введением ротенона в *substantia nigra* среднего мозга.** Опыты проведены на наркотизированных крысах-самцах линии Вистар (нембутал и уретан в пропорции 30 и 500 мг/кг внутрибрюшин-

но) массой тела 300-320 г (n=7). Время начала эксперимента после наркотизации крыс составило  $45 \pm 5$  мин. С дорсальной поверхности головы крысы рассекали мягкие ткани свода черепа, удаляли надкостницу, с помощью гемостатической губки проводили гемостаз. Голову фиксировали в стереотаксическом приборе СЭЖ-5 таким образом, чтобы черепные ориентиры лямбда и брегма располагались в одной горизонтальной плоскости. Расчет координат компактной области черной субстанции правого полушария (*substantia nigra pars compacta* – SNc) осуществляли по атласу головного мозга крыс линии Вистар. Координаты исследуемой области: 5,2-5,3 мм каудальнее брегмы, 2,2-2,3 мм латеральнее средней линии и 7,2-8,0 мм вентральнее поверхности черепа [12]. При помощи микродрели (Marathon, Sae yang microtech, Корея) в костях черепа в соответствии со стереотаксическими координатами выполняли отверстие диаметром 1 мм. Вскрывали твердую мозговую оболочку. Через трепанационное отверстие в ткань мозга с помощью микроманипулятора вводили шприц Гамильтона (Sigma). Далее осуществляли медленное интрацеребральное введение ротенона. Унилатеральное 1-точечное стереотаксическое введение ротенона (50 мг/мл) производили в дозе 4 мкл в растворителе ДМСО:ПЭГ=1:1 с помощью шприца Гамильтона. Скорость инфузии составила 1 мкл/мин, затем шприц оставляли на месте еще на 2 минуты для диффузии ротенона. Далее рану ушивали при помощи плетеного синтетического рассасывающегося стерильного хирургического материала (полигликолид, Футберг). Мониторинг состояния животных проводился непрерывно в течение первых 7 часов после операции: оценивалась частота дыхания, двигательная активность, восполнялась потеря жидкости.

**Морфологическая картина.** Нефиксированный мозг после глубокого замораживания (для исключения артефактов) помещали на криостатный блок. Фронтальные срезы мозга толщиной 7 мкм готови-

ли на микротоме-криостате НМ 525 (производитель «Micom», Германия). При подготовке микропрепаратов уровень срезов определяли по стереотаксическому атласу мозга крысы. Для светооптического исследования срезы окрашивали тионином и метиленовым синим по Нисслю и гематоксилин-эозином. Изучение микропрепаратов и изготовление микрофотографий проводили с помощью микроскопа Altam LUM-1 с цифровой камерой и программным обеспечением при увеличении объектива 40×.

### Результаты исследования

**При моделировании паркинсонического синдрома *in vivo* при подкожном введении ротенона с 3-х суток от начала эксперимента** развились симптомы, характерные для экспериментального ПС: олигокинезия, птоз верхнего века и сгорбленная поза животного. Динамика выраженности симптомов (максимальное значение к 3-4 и 28 суткам, с постепенным регрессом симптомов к 14 суткам) указывало на фазовость процесса формирования хронической модели паркинсонизма. В группе контроля данные признаки отсутствовали. У крыс различия в результатах оценки двигательной активности, проведенные на различные сутки эксперимента, носили статистически значимый характер ( $p < 0,05$  для всех оценок), что можно объяснить действием ротенона на организм. В процессе эксперимента токсическое действие ротенона привело к гибели 40% животных.

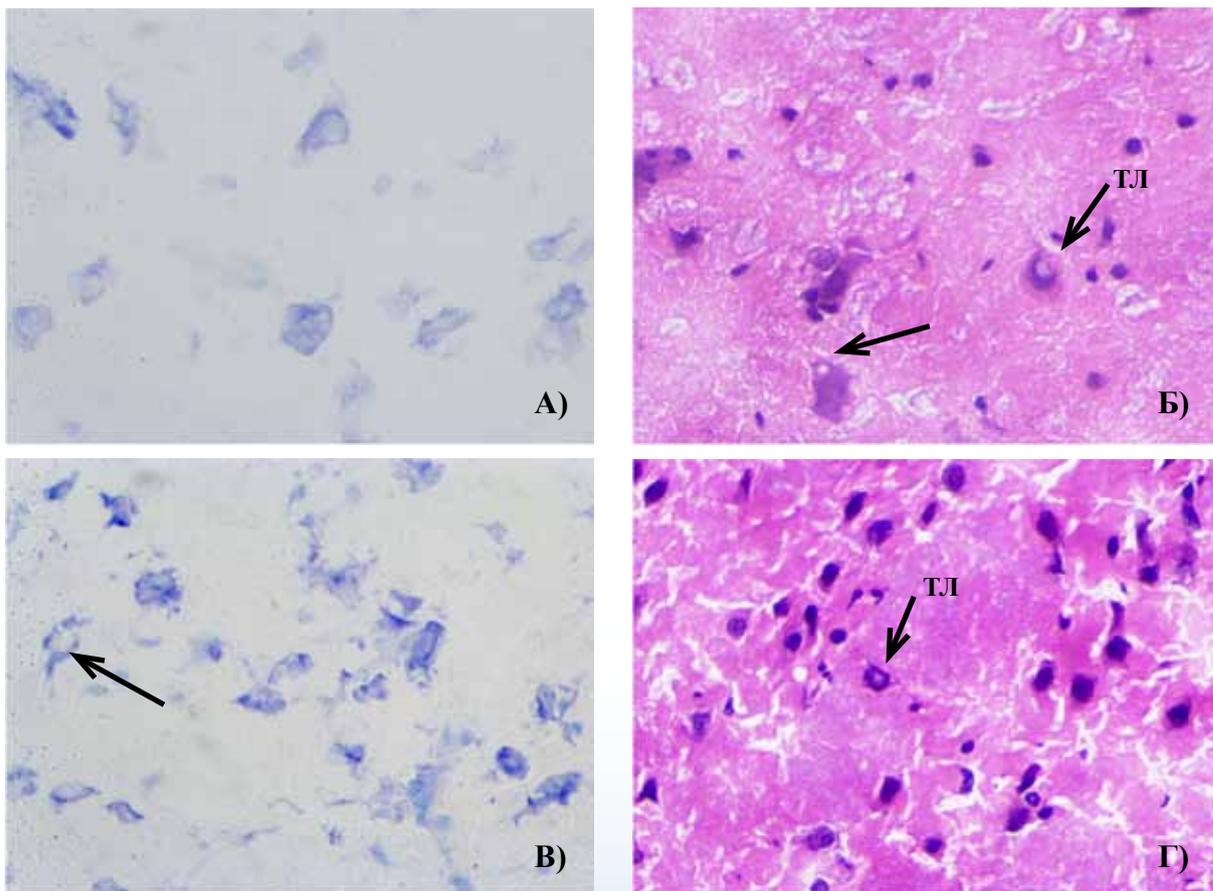
**Модель паркинсонического синдрома *in vivo* со стереотаксическим интрацеребральным введением ротенона в *substantia nigra* среднего мозга.** Двое животных погибли в первые два часа после операции. Третье животное погибло через 18 часов после интрацеребрального введения ротенона. Четверо оставшихся животных находились в удовлетворительном состоянии. У одного животного на четвертые сутки наблюдались признаки общей заторможенности и брадикинезии, сохраняющиеся на протяжении двух недель после

постановки эксперимента. У другого животного на третьи сутки был выражен гемисиндром. Еще у одной крысы в первые пять суток выявлена ригидность мышц задних конечностей и поструральная нестабильность, сохраняющиеся на протяжении двух недель после постановки эксперимента. Через 14 суток после введения ротенона оставшиеся четыре крысы находились в удовлетворительном состоянии с минимальными проявлениями паркинсонического синдрома.

**Модель паркинсонического синдрома *in vivo* при и/н введении ротенона.** При ежедневном контроле активности животных не было выявлено явных визуальных изменений неврологического статуса. После 30 суток ежедневных интраназальных аппликаций проведена декапитация у крыс контрольной (n=14) и эксперимен-

тальной групп (n=7) с забором биологического материала (головной мозг) с последующим морфологическим исследованием.

При гистологическом исследовании черной субстанции мозга крысы после подкожного введения ротенона в дозе 2 мг/кг к 14-м суткам наблюдались выраженные деструктивные изменения, сохранявшиеся спустя 7 суток после введения препарата. Практически все нейроны имели те или иные признаки патологических изменений, выявлялись как гиперхромные сморщенные нейроны, так и клетки с тигролизом. В ряде нервных клеток обнаруживались вакуоли (рисунок 1 Б, В). Также в клетках выявлялись тельца Леви. В области базальных ядер также выявлялось значительное число патологически измененных нейронов, сморщенных или с тигролизом. Также обнаруживались единичные тельца Леви (рисунок 1 Б, Г).



Стрелка – вакуолизация цитоплазмы нейрона, ТЛ – тельца Леви. Окраска: по Нисслю (А, В), гематоксилин-эозином (Б, Г). Увеличение: ×400.

**Рисунок 1** – Микрофото фронтальных срезов черной субстанции (А, Б) и стриатума (В, Г) после подкожного введения ротенона

Таким образом, подкожное введение крысам Ротенона в дозе 2 мг/кг в течение 14 суток приводило к развитию деструктивных изменений в nigrostriatalной системе с образованием телец Леви, что соответствовало патоморфологической картине болезни Паркинсона.

Интраназальное введение ротенона также приводило к развитию нейродеструктивных процессов в черной субстанции головного мозга крысы. Часть нейронов сохраняла нормальное строение, в них четко определялись центрально расположенные ядро и ядрышко, цитоплазма была нормохромна. Определялись многочисленные нейроны с тигролизом. Иногда наблюдалась вакуолизация ядер или цитоплазмы клеток. Встречались единичные тельца Леви. На отдельных участках отмечалось увеличение числа глиальных элементов,

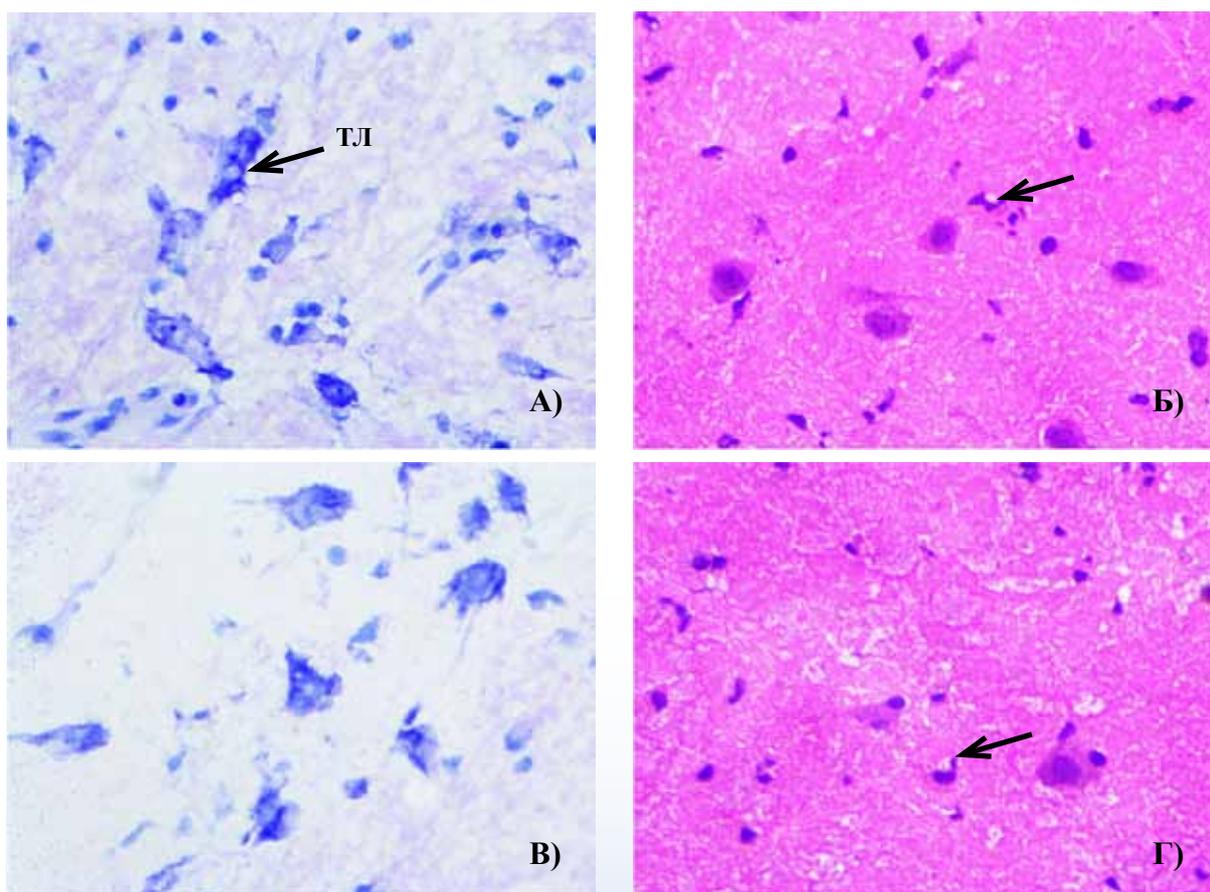
часто расположенных вблизи деструктивно измененных нейронов (рисунок 2 А).

Признаки нейродеструкции наблюдались и в стриатуме (рисунок 2 В, Г), однако изменениям подвергалось меньшее число клеток по сравнению с черной субстанцией.

Таким образом, при интраназальном введении ротенона также выявлены морфологические признаки развития болезни Паркинсона.

### Выводы

При различных системных способах моделирования ПС на крысах нами получено морфологически подтвержденное формирование нейродегенеративных изменений в мозге экспериментальных животных. Полученные нами результаты независимо подтверждают мнение боль-



Стрелка – вакуолизация цитоплазмы нейрона, ТЛ – тельца Леви. Окраска: по Ниссля (А, В), гематоксилин-эозином (Б, Г). Увеличение:  $\times 400$

**Рисунок 2** – Микрофото фронтальных срезов черной субстанции (А, Б) и стриатума (В, Г) после интраназального введения ротенона

шинства исследователей о том, что проявления ПС при создании моделей хронического нейродегенеративного процесса носят волнообразный характер и характеризуются двумя пиками максимальной выраженности суммарных признаков паркинсонизма (3-4-е и 28-е сутки с момента начала моделирования). Первый пик объясняется возможным развитием острого обратимого повреждения среднего мозга, сопровождающегося реакциями нейровоспаления, второй пик – необратимым повреждением дофаминергических нейронов [7]. Эти данные следует использовать для решения вопроса о сроках забора материала для морфологических исследований и начале основного эксперимента по оценке качества той или иной терапии. Учитывая низкую вариабельность клинических проявлений, технические сложности и высокую смертность животных при создании модели со стереотаксическим однократным введением ротенона, предпочтительным подходом к моделированию синдрома паркинсонизма является подкожное и интраназальное введение ротенона. Интраназальный способ моделирования ПС является наиболее доступным и малоинвазивным.

**Благодарность.** Исследование проведено в рамках выполнения НИОК(Т)Р по заданию 19.17 «Разработать и внедрить метод терапии болезни Паркинсона с использованием клеточных технологий» подпрограммы «Трансплантация клеток, органов и тканей» ГНТП «Новые методы оказания медицинской помощи».

### Библиографический список

1. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с противопаркинсонической активностью [Текст]: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Т.А. Воронина [и др.]. М.: Гриф и К, 2012. С. 219-235.
2. Модели болезни Паркинсона *in vitro* / Н.А. Малиновская [и др.] // Научный аспект. – 2012. – № 4. – С. 15-20.

3. Угрюмова, М.В. Моделирование болезни Паркинсона на грызунах / Нейродегенеративные заболевания: от генома до целостного организма. В 2-х томах. Том 1 / Под ред. М.В. Угрюмова. М.: Научный мир, 2014. – 580 с.

4. Differences in nigral neuron number and sensitivity to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in C57/bl and CD-1 mice / U. Muthane [et al.] // *Exp. Neurol.* – 1994. – Vol. 126, – № 2. – P. 195-204.

5. Time course and morphology of dopaminergic neuronal death caused by the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine / V. Jackson-Lewis [et al.] // *Neurodegeneration.* – 1995. – Vol. 3. – P. 257-269.

6. Ставровская, А.В. Морфохимическая оценка результатов нейротрансплантации при экспериментальном паркинсонизме / А.В. Ставровская, Д.Н. Воронков, Н.Г. Ямщикова // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* – 2015. – Т. 2. – С. 28-32.

7. Rotenone, Deguelin, Their Metabolites, and the Rat Model of Parkinson's Disease / P. Caboni [et al.] // *Chem. Res. Toxicol.* – 2004. – Vol. 11, No. 17. – P. 1540-1548. doi: 10.1021/tx049867r

8. Mitochondrial complex I inhibitor rotenone-induced toxicity and its potential mechanisms in Parkinson's disease models / N. Xiong [et al.] // *Crit. Rev. Toxicol.* 2012. – Vol. 42. – P. 613-632. doi: 10.3109/10408444.2012.680431.

9. Иллариошкин, С.Н. Моделирование болезни Паркинсона с использованием индуцированных плюрипотентных стволовых клеток [Текст] / С.Н. Иллариошкин, Л.Г. Хаспеков, И.А. Гривенников. – М.: РКИ Соверо пресс, 2016. – 183 с.

10. Development and characterisation of a novel rat model of Parkinson's disease induced by sequential intranigral administration of AAV- $\alpha$ -synuclein and the pesticide, rotenone / P. Mulcahy [et al.] // *Neurosci.* – 2012. – Vol. 203. – P. 170-179. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.12.011.

11. Intranasal Administration of Rotenone to Mice Induces Dopaminergic Neurite

Degeneration of Dopaminergic Neurons in the Substantia Nigra / H. Sasajima [et al.] // Biol Pharm Bull. – 2017. – Vol. 40, No. 1. – P. 108-112. doi: 10.1248/bpb.b16-00654.

12. Paxinos, Y. The Rat Brain In Stereotaxic Coordinates / Y. Paxinos, C. Watson. – 4th ed. – San Diego Academic Press, 1998. – 256 p.

**Z.A. Hladkova, N.Y. Aleinikava, T.Y. Kuznetsova, A.V. Boika,  
V.V. Ponomarev, A.M. Ustsiamchuk, D.B. Nizheharodava**

### **ROTENON MODELS OF PARKINSONISM SYNDROME *IN VIVO***

The creation of various models of Parkinsonian Syndrome (PS) *in vivo* and *in vitro* is necessary for the development of new methods for the treatment of Parkinson's disease (PD). Development of preparation of toxic experimental models of PS in rats using different routes and doses of administration of the rotenone. PS models based on subcutaneous, stereotaxic and intranasal administration of the rotenone were studied. For light-optical examination, the sections were stained with thionine and methylene blue according to Nissl and haematoxylin-eosin. In the intranasal administration group of the rotenone, unlike the groups with subcutaneous and stereotaxic administration, there were no obvious visual changes in the neurological status. Morphological signs of PS development were obtained. The PS models we obtained are suitable for studying the efficacy of experimental methods of PD therapy.

**Key words:** *Parkinson's disease, Parkinson's syndrome, modeling, rotenon*

*Поступила 20.09.2018*