

© Коллектив авторов, 2018
УДК 616-092.9

Симанкова А.А.¹, Сазонова Е.Н.^{1,2}, Лебедько О.А.^{1,2}

Влияние неонатального введения опиоидного пептида даларгин на отдаленные церебральные последствия антенатальной гипоксии

¹ ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, 680000, г. Хабаровск, Россия, ул. Муравьева-Амурского, д. 35

² Хабаровский филиал ДНЦ ФПД – НИИ охраны материнства и детства, г. Хабаровск, Россия, ул. Воронежская, д. 49, корп. 1

Цель исследования — анализ влияния δ/μ -агониста даларгина (Tyr — D-Ala — Gly — Phe — Leu — Arg) на морфофункциональные показатели головного мозга у половозрелых белых крыс Вистар, перенесших антенатальную гипоксию. **Методика.** Крысы-самки подвергались воздействию гипобарической гипоксии с 15-х по 19-е сут. гестации. Потомство было разделено на 2 группы: 1) животным группы «Антенатальная гипоксия» (n = 12) интраперитонеально вводили 0,1 мл физиологического раствора с 2-х по 6-е сут. жизни; 2) животным группы «Антенатальная гипоксия + даларгин» (n = 17) в те же сроки интраперитонеально вводили даларгин в дозировке 100 мкг/кг. Группа «Контроль» (n = 25) включала потомство крыс-самок, не подвергавшихся действию гипоксии в период гестации. В гистологических препаратах головного мозга 60-суточных крыс-самцов исследуемых групп определяли площадь ядер и ядрышек нейронов II и V слоев неокортекса и поля СА1 гиппокампа. Активность процессов свободнорадикального окисления в гомогенатах головного мозга определяли методом хемилюминисценции. Поведенческие реакции оценивали в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». **Результаты.** У животных группы «Антенатальная гипоксия» выявлено уменьшение массы тела и массы головного мозга; уменьшение числа ядрышек в нейронах II слоя неокортекса и гиппокампа, уменьшение площади ядер нейронов V слоя неокортекса и снижение площади ядрышек нейронов всех исследованных зон; повышение локомоторной активности; активация свободнорадикального окисления в гомогенатах мозга. Введение даларгина уменьшало морфофункциональные церебральные последствия антенатальной гипоксии. **Заключение.** Показан эффект даларгина для коррекции отдаленных церебральных последствий перенесенной антенатальной гипоксии в эксперименте.

Ключевые слова: опиоидные пептиды, головной мозг, антенатальная гипоксия.

Для цитирования: Симанкова А.А., Сазонова Е.Н., Лебедько О.А. Влияние неонатального введения опиоидного пептида даларгин на отдаленные церебральные последствия антенатальной гипоксии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2018; 62(3): 31—36.
DOI: 10.25557/0031-2991.2018.03.31-36

Для корреспонденции: Сазонова Елена Николаевна, доктор мед. наук, зав. каф. нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО ДВГМУ, e-mail: sazen@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 11.05.2017

Simankova A.A.¹, Sazonova E.N.^{1,2}, Lebed'ko O.A.^{1,2}

Effect of neonatal administration of the opioid peptide dalargin on long-term cerebral consequences of antenatal hypoxia

¹ Far Eastern State Medical University, Muravjeva-Amurskogo Str. 35, Khabarovsk 680000; phone: 8(4212)32-63-93, e-mail: nauka@mail.ru

² Khabarovsk Branch of the Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Breath, the Research Institute for Maternal and Childhood Protection, Voronezhskaya Str. 49, Bldg 1, Khabarovsk; e-mail: iomid@yandex.ru

The aim of the study was to analyze the effect of δ/μ -agonist dalargin (Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg) on brain morphology and function in mature albino rats exposed to antenatal hypoxia. **Methods.** Female rats were exposed to hypobaric hypoxia from gestation day 15 to day 19 day. The offspring was divided into 2 groups: 1) the first group, antenatal hypoxia (n = 12), where rats were injected with 0.1 ml of saline from 2 to 6 days of life, 2) the second group, antenatal hypoxia + dalargin (n = 17), where rats were injected with the peptide dalargin (100 mg/kg, i.p.) from 2 to 6 days of life. The control group (n = 25) included offspring of intact female rats. The size of neuronal nuclei and nucleoli in neocortical layers II and V and hippocampal area CA1 were measured on histological slides of the brain from 60-day old male rats. Intensity of free radical oxidation was determined by chemiluminescence in brain homogenates. Rat behavior was evaluated using the open field test and the elevated plus-maze test.

Results. Antenatal hypoxia decreased body weight and weight of cerebral hemispheres in 60-day old male albino rats compared with the control. Antenatal hypoxia decreased the number of neuronal nucleoli in layer II of the neocortex and hippocampal area CA1, reduced neuronal nucleus size in layer V of the neocortex and the total area of neuronal nucleoli in all examined brain areas of 60-day-old male albino rats. Animals of this experimental group displayed increased motor activity. The chemiluminescence study of brain homogenates from 60-day-old animals showed increased free radical generation in brain tissues. Administration of dalargin reduced the morphofunctional cerebral consequences of antenatal hypoxia. **Conclusion.** Dalargin can be used for correcting long-term cerebral consequences of antenatal hypoxia.

Keywords: opioid peptides, brain, antenatal hypoxia.

For citation: Simankova A.A., Sazonova E.N., Lebed'ko O.A.. Influence of the neonatal administration of the opioid peptide Dalargin on the long-term cerebral consequences of the antenatal hypoxia. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2018; 62(3): 31—36. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2018.03.31-36

For correspondence: Elena N. Sazonova, Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Normal and Pathological Physiology «Federal State Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Learning «Far Eastern State Medical University»; 35 Murav'eva-Amurskogo str., 680000, Khabarovsk, Russia, e-mail: sazen@mail.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Information about authors:

Simankova A.A., <http://orcid.org/0000-0002-2990-8990>;

Sazonova E.N., <http://orcid.org/0000-0002-8668-492X>;

Lebed'ko O.A., <http://orcid.org/0000-0002-8855-7422>.

Received 11.05.2017

Введение

До 72% новорожденных, перенесших тяжелую гипоксию-ишемию в перинатальном периоде, имеют психоневрологический дефицит различной степени тяжести, а примерно у 25% из них формируются устойчивые расстройства в виде задержки умственного и двигательного развития, детского церебрального паралича и эпилепсии [1]. Эффективная постнатальная коррекция антенатальных гипоксических поражений ЦНС остается актуальной научно-практической задачей. Перспективным средством коррекции гипоксических повреждений головного мозга может быть даларгин — энзимоустойчивый синтетический аналог лей-энкефалина, периферический агонист δ/μ -опиатных рецепторов [2, 3]. Однако применение даларгина в педиатрической практике ограничено недостаточностью экспериментальных данных о безопасности применения пептида в ранних периодах онтогенеза [4].

Цель — анализ влияния неонатального введения даларгина на морфофункциональные показатели головного мозга половозрелых белых крыс, перенесших антенатальную гипоксию.

Методика

Работа одобрена этическим комитетом медицинского университета. При проведении экспериментов руководствовались приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики». Использовано потомство 3—4-месячных белых крыс-самок Вистар.

Беременных крыс-самок с 15-х по 19-е сут. гестации помещали в барокамеру и снижали давление до 240 мм рт. ст., что соответствует парциальному давлению кислорода 42 мм рт. ст. Потомство крыс-самок, подвергнутых гипоксии, делили на 2 экспериментальные группы: «Антенатальная гипоксия» — крысята-самцы из потомства крыс-самок (с гипоксией), получавшие с 2-х по 6-е сут. жизни внутривентриально 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия (10) и группа «Антенатальная гипоксия + даларгин» — крысята-самцы из потомства крыс-самок, подвергнутых антенатальной гипоксии и получавшие с 2-х по 6-е сут. жизни внутривентриально пептид даларгин в дозе 100 мкг/кг в 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия (17). Контролем служило потомство интактных животных (крысята-самцы), получавшее со 2-х по 6-е сут. жизни внутривентриальное введение 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия (15). Использовали пептид даларгин (Тут — D-Ala — Gly — Phe — Leu — Arg) — энзимоустойчивый синтетический аналог эндогенного лей-энкефалина, δ/μ -агонист опиатных рецепторов, с преимущественной δ -опиоидной активностью (ООО «Алмабион» (Россия).

Для анализа отдаленных поведенческих последствий антенатальной гипоксии 30-суточных крысят-самцов тестировали в тест-установке «Открытое поле», поведение 60-суточных — в тест-установке «Приподнятый крестообразный лабиринт».

Животных в возрасте 60 сут. декапитировали под 30-секундным рауш-наркозом парами хлороформа.

Немедленно вскрывали черепную коробку отпрепарировали головной мозг вместе с сенсомоторной корой и областью гиппокампа. Затем тотчас проводили взвешивание головного мозга: определяли абсолютную массу полушарий мозга, а также рассчитывали относительную массу полушарий головного мозга путем деления абсолютной массы полушарий головного мозга (мг) на массу тела (г).

Затем правое полушарие помещали в жидкий азот для проведения хемилюминисцентного анализа, а левое — в фиксирующий раствор Карнуа для проведения гистологического исследования. Гистологическую обработку ткани проводили по общепринятой методике [5]. Полушария мозга заливали в парафиновые блоки и готовили срезы толщиной 5 мкм на микротоме «Leica».

На гистологических препаратах теменной доли головного мозга, импрегнированных азотнокислым серебром по методу AgNOR [6, 7], в ядрах нейронов II и V слоев неокортекса и поля CA1 гиппокампа проводили подсчет количества ядрышек, определяли суммарную площадь ядрышек и площадь ядер. Морфометрическую обработку материала осуществляли на анализаторе изображений «МЕКОС-Ц». Для оценки среднего количества ядрышек, выполняли подсчет в 100 клетках каждой из исследуемых областей. Кариометрию и нуклеометрию осуществляли в 50 клетках каждой исследуемой области мозга.

Для анализа процессов свободнорадикального окисления в гомогенатах тканей мозга 60-суточных животных проводили хемилюминисцентное исследование (ХМЛ). Регистрацию ХМЛ осуществляли на люминисцентном спектрометре LS 50B «PERKIN ELMER» [8]. Стандартизацию сигнала и математическую обработку кривых ХМЛ выполняли с помощью встроенной программы «Finlab». Определяли: $S_{сп.}$ — светосумму за 1 мин спонтанной ХМЛ, величина которой отражает интенсивность свободнорадикальных процессов; $H1$ -максимум быстрой вспышки Fe^{2+} -индуцированного свечения свидетельствующий о содержании гидроперекисей липидов; $S_{инд.1}$ — светосумму за 2 мин Fe^{2+} -индуцированной хемилюминисценции, отражающую скорость образования перекисных радикалов липидной природы; $H2$ — максимум амплитуды H_2O_2 -индуцированного люминол-зависимого свечения,

отрицательно коррелирующий с перекисной резистентностью субстрата; $S_{инд.2}$ — светосумму за 2 мин H_2O_2 — индуцированной люминол-зависимой хемилюминисценции, величина которой обратно коррелирует с активностью антиоксидантной системы защиты. Интенсивность хемилюминисценции, измеренную в милливольт-тах, рассчитывали на 1 г образца и выражали в относительных единицах.

Анализ результатов проводили с помощью стандартной программы Statistica-5.0. Различия между группами оценивали по *t*-критерию Стьюдента и критерию Манна—Уитни и считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У 60-суточных крыс-самцов групп «Аntenатальная гипоксия» и «Аntenатальная гипоксия + даларгин» были зарегистрированы статистически значимое снижение массы тела и абсолютной массы полушарий головного мозга по сравнению с контролем (табл. 1).

Морфометрия импрегнированных препаратов головного мозга выявила существенные изменения в нейронах у 60-суточных животных, перенесших антенатальную гипоксию. Антенатальная гипоксия вызывала уменьшение площади ядер нейронов V слоя неокортекса собственно теменной доли; снижение количества ядрышек в ядрах нейронов II слоя неокортекса собственно теменной доли и поля CA1 гиппокампа; снижение суммарной площади ядрышек в ядрах нейронов всех исследованных зон головного мозга 60-суточных животных (табл. 2).

При интраперитонеальном введении даларгина в неонатальном периоде крысам-самцам, пережившим антенатальную гипоксию, параметры ядрышкового аппарата и показатели кариометрии нейронов головного мозга существенно не отличались от контроля в отличие от показателя группы (табл. 2). Наблюдалась нормализация показателя площади ядер нейронов V слоя неокортекса; суммарная площадь ядрышек нейронов всех исследованных зон головного мозга. Не выявлено уменьшение количества ядрышек в нейронах II слоя неокортекса собственно теменной доли и поля CA1 гиппокампа. Более того, в нейронах II слоя неокортекса показатель количества яд-

Таблица 1

Гравиметрические показатели 60-суточных крыс-самцов экспериментальных групп

Экспериментальная группа	Масса тела (г)	Абсолютная масса полушарий мозга (мг)	Относительная масса полушарий мозга (мг/г)
Контроль (n = 15)	281,67 ± 9,20	1302,7 ± 31,82	4,71 ± 0,22
Аntenатальная гипоксия (n = 10)	249,44 ± 7,97 *	1201,0 ± 17,11 *	4,75 ± 0,16
Аntenатальная гипоксия + даларгин (n = 17)	256,18 ± 5,90 *	1199,4 ± 11,38 *	4,72 ± 0,12

Примечание. * — $p < 0,05$ по отношению к группе "контроль".

рышек оказался статистически значимо выше контрольного. Таким образом, неонатальное введение даларгина предотвращало развитие изменений состояния ядер и ядрышек нейронов после антенатальной гипоксии.

Структурные изменения головного мозга после антенатальной гипоксии сопровождались выраженными функциональными нарушениями. При исследовании поведения 30-суточных крыс-самцов в тесте «Открытое поле» (табл. 3). Обнаружено, что животные, перенесшие антенатальную гипоксию, демонстрировали повышенную двигательную активность, которая выражалась в статистически значимом увеличении количества посещенных центральных и периферических секторов (на 482,02% и 40% соответственно), а также стоек (на 60,96%).

Применение даларгина в раннем постнатальном периоде у животных, перенесших антенатальную гипоксию, практически полностью нормализовало поведенческие реакции 30-суточных животных в тесте «Открытое поле» (табл. 3). Количество посещенных периферических секторов и число стоек у животных

этой экспериментальной группы не отличались от аналогичных показателей контроля.

При исследовании поведенческих реакций половозрелых 60-суточных крыс-самцов группы «Антенатальная гипоксия» в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (табл. 4), обнаружено, что эти животные провели статистически значимо большее время в открытых рукавах лабиринта (на 181,8%), совершили больше посещений открытых (на 113,3%) и закрытых (на 52,2%) рукавов по сравнению с группой «контроль». Неонатальное введение даларгина животным, перенесших антенатальную гипоксию, не оказывало существенного нормализующего действия на поведенческие реакции 60-суточных животных в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт».

Ранее нами были документированы признаки оксидативного стресса на органном уровне у 60-суточных белых крыс-самцов, перенесших антенатальную гипоксию [13]. Хемилюминесцентный анализ гомогенатов ткани головного мозга исследуемых животных подтвердил эту закономерность (табл. 5).

Таблица 2

Кариометрические и нуклеолометрические показатели нейронов неокортекса собственно теменной доли и гиппокампа 60-суточных крыс-самцов экспериментальных групп

Экспериментальные группы	Площадь ядер (мкм ²)	Суммарная площадь ядрышек (мкм ²)	Количество ядрышек
II слой неокортекса собственно теменной доли			
Контроль (n = 10)	68,43 ± 1,88	2,94 ± 0,09	1,70 ± 0,03
Антенатальная гипоксия (n = 10)	66,87 ± 1,39	1,99 ± 0,09 *	1,51 ± 0,03 *
Антенатальная гипоксия + даларгин (n = 10)	70,88 ± 1,23	2,76 ± 0,07	1,81 ± 0,03 *
V слой неокортекса собственно теменной доли			
Контроль (n = 10)	124,67 ± 2,25	4,80 ± 0,10	1,08 ± 0,007
Антенатальная гипоксия (n = 10)	109,92 ± 3,83*	3,64 ± 0,20 *	1,08 ± 0,007
Антенатальная гипоксия + даларгин (n = 10)	121,63 ± 3,02	4,27 ± 0,11 *#	1,08 ± 0,006
Поле СА1 гиппокампа			
Контроль (n = 10)	50,60 ± 1,78	3,00 ± 0,13	2,13 ± 0,05
Антенатальная гипоксия (n = 10)	49,31 ± 0,75	1,99 ± 0,07 *	1,76 ± 0,03 *
Антенатальная гипоксия + даларгин (n = 10)	50,38 ± 1,23	3,08 ± 0,09	2,01 ± 0,04
Примечание. * — p < 0,05 по отношению к группе "контроль"; # — p < 0,05 по отношению к группе "Антенатальная гипоксия".			

Таблица 3

Результаты теста «Открытое поле» у 30-суточных крыс-самцов экспериментальных групп

Показатель	Контроль (n = 19)	Антенатальная гипоксия (n = 11)	Антенатальная гипоксия + даларгин (n = 18)
Центральные секторы (число)	0,89 ± 0,21	5,18 ± 1,78 *	3,56 ± 0,98 *#
Периферических секторы (число)	79,00 ± 8,43	110,60 ± 10,69 *	104,23 ± 7,60
Стойки (число)	10,22 ± 1,19	16,45 ± 2,13 *	14,33 ± 11,99
Время груминга (с)	5,83 ± 1,46	3,91 ± 1,54	5,06 ± 1,26
Дефекации (число)	2,00 ± 0,35	2,00 ± 0,33	2,06 ± 0,35
Примечание. * — p < 0,05 по отношению к группе "контроль"; # — p < 0,05 по отношению к группе "Антенатальная гипоксия".			

При анализе активности свободнорадикальных процессов в тканях головного мозга 60-суточных животных, получавших даларгин после антенатальной гипоксии, обнаружено, что показатель скорости образования перекисных радикалов ($S_{\text{инд.1}}$) статистически значимо снижен по сравнению с аналогичным показателем в группе «Антенатальная гипоксия» и близок к контрольному уровню. Активность антиоксидантной защиты (величина $S_{\text{инд.2}}$) и резистентность к перекисному окислению (амплитуда H2) подверглись частичной коррекции.

Обсуждение

Воздействие антенатальной гипоксии приводит к выраженным морфофункциональным нарушениям головного мозга половозрелых животных. У 60-суточных крыс-самцов, перенесших антенатальную гипоксию, зарегистрировано уменьшение массы тела и массы головного мозга. Выявленное снижение количества ядрышек в ядрах нейронов и уменьшение их суммарной площади свидетельствует об уменьшении анаболической активности клеток головного мозга [9—11] и синаптической активности нейронов [12]. При хемилюминесцентном исследовании гомогенатов ткани головного мозга подопытных животных были выявлены признаки активации свободнорадикального окисления и ослабление антиоксидантной защиты.

Зарегистрированные морфологические и биохимические изменения сопровождались поведенческими отклонениями: 30-суточные и 60-суточные животные группы «Антенатальная гипоксия» демонстрировали повышение локомоторной активности в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт».

Введение даларгина новорожденным белым крысам, перенесшим антенатальную гипоксию, частично корректирует отдаленные морфофункциональные церебральные нарушения. Выявлена существенная коррекция кариометрических и нуклеолометрических показателей у 60-суточных животных группы «Антенатальная гипоксия + даларгин», уменьшение интенсивности процессов свободнорадикального окисления. Коррекция поведенческих отклонений была выявлена только в возрасте 30 сут. Поведенческие показатели 60-суточных животных группы «Антенатальная гипоксия + даларгин» не отличались от показателей группы «Антенатальная гипоксия». Возможно, корректирующее влияние неонатального введения даларгина на поведенческие отклонения у белых крыс, перенесших антенатальную гипоксию, является транзиторным и не сохраняется до периода половой зрелости.

Данные литературы свидетельствуют, что опиоидная система может оказывать нейропротективный эффект при дегенеративных неврологических заболеваниях, характеризующихся состоянием кислородной недостаточ-

Таблица 4

Результаты теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» у 60-суточных крыс-самцов экспериментальных групп

Показатели	Контроль (n = 25)	Антенатальная гипоксия (n = 12)	Антенатальная гипоксия + даларгин (n = 17)
Время движения (с)	90,08 ± 8,58	104,22 ± 6,26	97,74 ± 7,98
Время, проведенное в открытых рукавах (с)	24,82 ± 6,15	69,94 ± 18,67 *	115,99 ± 9,66 *
Количество заходов в открытые рукава	1,50 ± 0,29	3,20 ± 0,74 *	3,00 ± 0,32 *
Количество заходов в закрытые рукава	2,30 ± 0,25	3,50 ± 0,62 *	2,94 ± 0,31
Грумминг (время, с)	10,30 ± 2,60	9,91 ± 2,54	5,05 ± 2,17
Стойки (количество)	5,40 ± 0,78	6,60 ± 0,92	5,76 ± 1,06

Примечание. * — $p < 0,05$ по отношению к группе "контроль".

Таблица 5

Показатели хемилюминесценции (отн. ед.) гомогенатов головного мозга 60-суточных крыс-самцов, перенесших антенатальную гипоксию на фоне неонатального введения даларгина

Параметр	Контроль (n = 11)	Антенатальная гипоксия (n = 9)	Антенатальная гипоксия + даларгин (n = 17)
$S_{\text{сп}}$	0,121 ± 0,012	0,338 ± 0,033*	0,278 ± 0,022*
$S_{\text{инд.1}}$	0,879 ± 0,067	2,579 ± 0,216*	1,043 ± 0,062 #
H1	0,073 ± 0,005	0,259 ± 0,021*	0,207 ± 0,017 *
$S_{\text{инд.2}}$	3,063 ± 0,167	7,009 ± 0,451*	5,282 ± 0,336 **
H2	1,887 ± 0,109	5,706 ± 0,405*	3,337 ± 0,229 **

Примечание. * — $p < 0,05$ по отношению к группе "контроль"; # — $p < 0,05$ по отношению к группе "Антенатальная гипоксия".

ности [14, 15]. В экспериментальных исследованиях животные, которым вводился агонист опиоидных рецепторов, демонстрировали лучшую выживаемость в условиях гипоксии [16]. Наибольший нейропротективный эффект реализуется с δ -ОР [17, 18].

Вместе с тем, вещества с опиоидной активностью противопоказаны к применению в неонатологии и педиатрии. С точки зрения фармакологии даларгин определяется как «периферический опиоид», поскольку при системном введении не проходит через гематоэнцефалический барьер [19]. Однако в раннем постнатальном периоде, тем более в состоянии оксидативного стресса после перенесенной антенатальной гипоксии, проницаемость гематоэнцефалического барьера для даларгина может быть существенно нарушена. Все это определяет необходимость дальнейших исследований целесообразности и безопасности использования даларгина и его аналогов в неонатологической практике.

References

1. Lebedev S.V., Karasev A.V., Rogatkin S.O., Volodin N.N., Chehonin V.P. Problems and prospects of experimental modeling of perinatal hypoxic-ischemic injury of the central nervous system. *Vestnik Rossiyskoy AMN*. 2009; 2: 21-6. (in Russian)
2. Belousova E.A., Bulgakov S.A. Drugs — ligands of opiate receptors and their use in gastroenterology. *Farmateka*. 2011; 2: 26-31. (in Russian)
3. Lihvancev V.V., Grebenshchikova O.A., Shaposhnikov A.A., Borisov K.V., Cherpakov R.A., Shul'gina N.M. Pharmacological preconditioning: role of opioid peptides. *Obshchaya reanimatologiya*. 2012; 3: 51-5. (in Russian)
4. Shmakov A.N., Danchenko S.V., Kasymov V.A. Dalargin in intensive care in critical condition children. *Det'skaya meditsina Severo-Zapada*. 2012; 1: 41-4. (in Russian)
5. Volkova O.V., Eleckij Ju.K. *Fundamentals of histology and histological techniques*. Moscow; Meditsina; 1982. (in Russian)
6. Korzhenskij D.Je. Method for detection of nucleoli in the nuclei of cells of different tissues. *Arh. anat., gistol. i embr.* 1990; 8(2): 58-60. (in Russian)

7. Mamaev N.N., Mamaeva C.E. Structure and function of argyrophilic nuclear organizer regions chromosomes: molecular, cytological, clinical aspects. *Tsitologiya*. 1992; 10: 3-12. (in Russian)

8. Lebed'ko O.A., Ryzhavskij B.Ja., Zadornaja O.V. The free radical status of the neocortex of white rats and modification of derivatives of testosterone. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal*. 2011; 4: 95-9. (in Russian)

9. Vargas J.P., Rodriguez F., Lopez J.C., Arias J.L., Salas C. Spatial learning-induced increase in the argyrophilic nucleolar organizer region of dorsolateral telencephalic neurons in goldfish. *Brain Res*. 2000; 865(1): 77-84.

10. Garcia-Moreno L.M., Conejo N.M., Pardo H.G., Gomez M., Martin F.R., Alonso M.J. et al. Hippocampal AgNOR activity after chronic alcohol consumption and alcohol deprivation in rats. *Physiol. Behav.* 2001; 72(1-2): 115-21.

11. Parlato R., Kreiner G. Nucleolar activity in neurodegenerative diseases: a missing piece of the puzzle? *J. Mol. Med.* 2013; 91(5): 541-7.

12. Berciano M.T., Novell M., Villagra N.T., Casafont I., Bengoechea R., Val-Bernal J.F., Lafarga M. Cajal body number and nucleolar size correlate with the cell body mass in human sensory ganglia neurons. *J. Struct. Biol.* 2007; 158(3): 410-20.

13. Sazonova E.N., Simankova A.A., Lebed'ko O.A., Timoshin S.S. The effects of antenatal hypoxia on the behavioral responses of adult white rats. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal*. 2011; 4: 89-92. (in Russian)

14. Borlongan C.V., Wang Y., Su T.P. Delta opioid peptide (D-Ala 2, D-Leu 5) enkephalin: Linking hibernation and neuroprotection. *Front. Biosci.* 2004; 9: 3392-8.

15. Yang Y., Xia X., Zhang Y., Wang Q., Li L., Luo G. et al. delta-Opioid receptor activation attenuates oxidative injury in the ischemic rat brain. *BMC Biol.* 2009; 7: 55.

16. D'Alecy L.G. Delta-1 opioid agonist acutely increases hypoxic tolerance. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1994; 268(2): 683-8.

17. Bofetiado D.M., Mayfield K.P., D'Alecy L.G. Alkaloid d agonist BW 373U86 increases hypoxia tolerance. *Anesth. Analg.* 1996; 82(6): 1237-41.

18. Staples M., Acosta S., Tajiri N., Pabon M., Kaneko Y., Borlongan C.V. Delta opioid receptor and its peptide: a receptor-ligand neuroprotection. *Int J Mol Sci.* 2013; 23: 14(9): 17410-9.

19. Korobov N.V. Dalargin — an opioid-like peptide with peripheral action. *Farmakologiya i toksikologiya*. 1988; 51(4): 35-8. (in Russian)

Сведения об авторах:

Симанкова Анна Александровна, преподаватель каф. нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: annasimankova@mail.ru

Сазонова Елена Николаевна, доктор мед. наук, зав. каф. нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, вед. науч. сотр. Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО ДВГМУ; гл. науч. сотр. Хабаровского филиала ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» СО РАН — НИИ охраны материнства и детства (Хабаровский филиал ФГБУ ДНЦ ФПД СО РАН — НИИ охраны материнства и детства), e-mail: sazen@mail.ru

Лебедько Ольга Антоновна, доктор мед. наук, директор Хабаровского филиала ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» — НИИ охраны материнства и детства (Хабаровский филиал ФГБУ ДНЦ ФПД СО РАН — НИИ охраны материнства и детства); вед. науч. сотр. Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: leoaf@mail.ru