

М.А. Лебедева^{1,2}, Ю.С. Медведева¹, Р.С. Мирзоян²,
Д.В. Масленников², Н.Н. Золотов², М.Ю. Карганов^{1,3}

Интегральная оценка сдвигов в сывороточном гомеостазе при экспериментальном инфаркте миокарда

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, д.8

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии им. В.В. Закусова» РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, д.8

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Ленинский просп., 33

Изучали динамические изменения в сывороточном гомеостазе крыс при развитии экспериментального инфаркта миокарда с помощью метода лазерной корреляционной спектроскопии. Наличие некротического повреждения миокарда подтверждали электрокардиографическими, гистологическими и биохимическими методами. Обнаружено повышение вклада в светорассеяние мелких частиц в остром периоде инфаркта миокарда, свидетельствующее о накоплении в сыворотке продуктов катаболизма и изменении уровня отдельных белков. Сравнение субфракционного состава сыворотки крови крыс с различной степенью проникновения некроза в глинину миокарда выявило преобладание частиц низкомолекулярной фракции (до 10 нм) у животных с трансмуральным инфарктом и среднемолекулярной фракции (50–120 нм) у животных с нетрансмуральным инфарктом. Эти результаты согласуются с клиническими данными, полученными с помощью данного метода на пациентах с инфарктом миокарда с наличием патологического зубца Q на ЭКГ или без него.

Ключевые слова: экспериментальный инфаркт миокарда, лактатдегидрогеназа, лазерная корреляционная спектроскопия, гомеостаз

M.A. Lebedeva^{1,2}, U.S. Medvedeva¹, R.S. Mirzoyan²,
D.V. Maslennikov², N.N. Zolotov², M.Yu. Karganov^{1,3}

Integrated assessment of serum homeostasis shifts in experimental myocardial infarction

¹ The Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

² SF Institute of Pharmacology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

³ A.N. Bach Institute of Biochemistry of the RAS, Leninsky prospekt, 33, build. 2, Moscow, 119071, Russia

Dynamic changes in serum homeostasis of rats with experimental myocardial infarction evolution using the method of laser correlation spectroscopy were studied. The presence of necrotic myocardial damage was confirmed by electrocardiographic, histological and biochemical methods. Increased contribution of small particles in the acute period of myocardial infarction was detected, which indicates products of catabolism accumulation in serum and changing the level of some proteins. Comparison of subfractional content of sera from rats with varying degrees of extension of myocardial necrosis through the ventricular wall revealed the predominance of particles of low molecular size (up to 10 nm) in animals with transmural infarction and middle-size fraction (50–120 nm) in animals with non-transmural infarction. These results are consistent with the clinical data obtained by this method in patients with Q-wave and non-Q-wave myocardial infarction.

Key words: experimental myocardial infarction, lactate dehydrogenase, laser correlation spectroscopy, homeostasis

Оценка параметров гомеостаза биологических жидкостей наиболее показательна при определении тяжести патологических состояний, дифференциальной диагностике и проведении экспертизы эффективности лечения [1].

Для корреспонденции: Лебедева Марина Андреевна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр., лаб. полисистемных исследований ФГБУ «НИИ ОПП» РАМН. E-mail: labpolys@gmail.com

Метод лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС) позволяет оценивать жидкие нативные биологические среды с учетом межмолекулярных взаимодействий и взаимного влияния отдельных их компонентов. Результатом исследования биологических жидкостей методом ЛКС является информация о распределении частиц по их размерам (субфракционный состав) или о молекулярно-массовом распределении.

Изменение физиологического состояния организма приводит к изменению метаболических процессов, что, в свою очередь, ведет к изменению состава биологических жидкостей [2]. Так, преобладание низкомолекулярной фракции свидетельствует о накоплении в сыворотке крови продуктов катаболизма, сдвиг в сторону высокомолекулярной фракции свидетельствует об образовании крупных полимерных комплексов. Преобладание среднемолекулярной фракции свидетельствует об изменении белкового обмена и обмена липидов [5]. Таким образом, будучи неспецифическим, метод ЛКС дает общее представление о сдвиге метаболических и обменных процессов в организме в ту или иную сторону. Это позволяет применять его для дифференциальной диагностики различных патологических процессов в комплексе с традиционно используемыми методами.

Метод ЛКС был успешно применен для оценки тяжести заболевания и эффективности лечения при бронхиальной астме, сахарном диабете, анемии и ряде других заболеваний [3, 6, 8, 10]. Высокая чувствительность этого метода, превышающая диагностическую значимость измерения уровня тропонина I, установлена у больных с острым инфарктом миокарда [12]. Острый инфаркт миокарда (ИМ) приводит к развитию каскада биохимических, нейрогуморальных и иммунных процессов, которые происходят как в самой сердечной мышце, так и на системном уровне. При некрозе миокарда развивается асептическое воспаление, которое проявляется активацией цитокинов, образованием аутоантител, перестройкой клеточного звена иммунитета.

Цитокины стимулируют синтез белков острой фазы воспаления: С-реактивного белка, амилоидного А белка сыворотки, фибриногена, гаптоглобина и др. При развитии острого ИМ в сыворотку крови попадают белки, которые могут выполнять роль маркеров в диагностике миокардиального повреждения: тропонин, лактатдегидрогеназа, креатинкиназа и другие [15]. Концентрационная чувствительность ЛКС относительно белка составляет менее 1 мкг/мл, что намного превышает разрешающую способность любого фотометрического метода. Метод позволяет определять размеры частиц от 1 до 10000 нм, находящихся в любой биологической жидкости.

Цель исследования — оценка направленности изменений в сывороточном гомеостазе при развитии экспериментального ИМ у крыс.

Методика

Эксперименты проведены на 46 белых беспородных крысах-самцах массой 190—200 г. Экспериментальный ИМ у крыс моделировали путем необратимой окклюзии нисходящей ветви левой коронарной артерии [16], ложнопериорированным животным лигатуру не перевязывали [4]. Степень повреждения миокарда оценивали по динамике изменений ЭКГ и выраженности

гистологических изменений на 3, 14 сут. после оперативного вмешательства. Забор крови у крыс проводили из хвостовой вены через 3 и 14 сут. после окклюзии нисходящей ветви левой коронарной артерии.

Для регистрации ЭКГ использовали компьютерный электрокардиограф «Полиспектр-8/В» (Нейрософт, Россия). Кроме того, в качестве биохимического маркера для диагностики развития миокардиального некроза оценивали уровень активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Все определения активности ЛДГ в сыворотке крови крыс проводили в кинетическом режиме в пластиковых 1-см кюветах (Brand, ФРГ) при длине волны 340 нм на спектрофотометре DU-50 (Beckman-Coulter, США). Для определения ЛДГ использовали 10 мкл сыворотки крови и по 500 мкл раствора НАД, пирофосфатного буфера и раствора молочной кислоты. Время реакции составляло 20 мин при 37°C.

На 3- и 14-е сут. животных выводили из эксперимента путем передозировки эфирного наркоза, извлекали сердце для гистологического исследования. Материал фиксировали в 10%-ном водном растворе нейтрального формалина с дальнейшей заливкой в парафин и изготовлением серийных поперечных срезов толщиной 5 мкм на микротоме МНС-2 по общепринятым методикам.

Срезы выполнены на расстоянии 4 мм от верхушки сердца и окрашены для обзорных целей гематоксилином и эозином, для оценки степени ишемии миокарда — по Ли: гематоксилином — основным фуксином — пикриновой кислотой (ГОФП-методом) и для оценки соединительнотканного рубца на месте инфаркта — по Массону.

Весь материал исследовали с использованием биологического микроскопа ScienOp BP-20 при увеличении окуляров 7х, 10х и объективов 4х, 10х и 40х. Фотографировали цифровой камерой-окуляр для микроскопа DCM500 (500 pixels, USB2.0).

Субфракционный состав сыворотки крови регистрировали, используя лазерный корреляционный спектрометр ЛКС-03-«ИНТОКС», утвержденный Комитетом по новой медицинской технике МЗ РФ для определения размеров микрочастиц в биологических жидкостях (Сертификат RU.C. 39.003.A N 5381). Сыворотку крови крыс в объеме 0,18 мл заливали в кювету ЛК-спектрометра. Измерение проводили в частотном диапазоне 16 384 кГц в количестве 2000 накоплений. Регуляризацию спектра проводили с использованием нелинейной шкалы (программы «Spectrometer» входящей в программное обеспечение спектрометра). Результатом расчета при таком способе обработки является гистограмма, по оси ординат которой отложен процентный вклад частиц в светорассеяние, а по оси абсцисс — их размер (радиус) в нанометрах.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

1. Электрокардиография

Изменения на ЭКГ оценивали по наиболее информативному для крыс II стандартному отведению. На 3 сут. после окклюзии во II стандартном отведении ЭКГ наблюдали признаки некротического повреждения миокарда: глубокий зубец Q (рис. 1, А) или комплекс QS (рис. 1, Б). Глубокий зубец Q сохранялся в большинстве случаев и на 14-е сут. развития инфаркта.

2. Гистология

Гистологически на 3-и сут. в группе животных после перенесенной окклюзии коронарной артерии в миокарде левого желудочка наблюдали отчетливый коагуляционный некроз кардиомиоцитов в виде одного крупного размера очага с четкими границами (рис. 2, А). Цитоплазма кардиомиоцитов в очаге некроза гомогенная, светло-розового цвета, ядра в состоянии кариолизиса, часть клеток фрагментирована. Вокруг очага некроза наблюдали демаркационное воспаление. Пучки мышечных волокон в этом участке истончены, наблюдается выраженный отек стромы с лейкоцитарной инфильтрацией. В миокарде видны признаки диссоциации, фрагментации и волнообразной деформации мышечных волокон миокарда, что может быть следствием нарушения ритма сердца. В срезах представлены крупные и мелкие коронарные артерии и вены в состоянии резкого полнокровия.

При окраске ГОФП — методом на всей площади срезов наблюдается тотальная выраженная фуксинофилия цитоплазмы сохранившихся кардиомиоцитов (рис. 2, Б). При окраске по Массону обнаружена картина острого ИМ в период ярких некротических изменений.

На 14-е сут. после коронарной окклюзии окраска по Массону подтверждает картину ИМ в стадии рубцевания: крупные участки миокарда замещены созревающей рыхлой неоформленной соединительной тканью. Морфология кардиомиоцитов характеризуется выраженной белковой зернистой дистрофией и субтотальной умеренно-выраженной гипертрофией, сохраняются небольшие очаги некротизированных кардиомиоцитов.

На рис. 3. представлены наиболее показательные поперечные срезы сердец ложнопериорированных животных и крыс, подвергшихся перевязке коронарной артерии. Видно, что у крыс опытной группы к 14 сут. после операции практически вся стенка левого желудочка сердца в зоне рубца была представлена соединительной тканью. Отмечается гипертрофия миокарда и увеличение объема полостей желудочков.

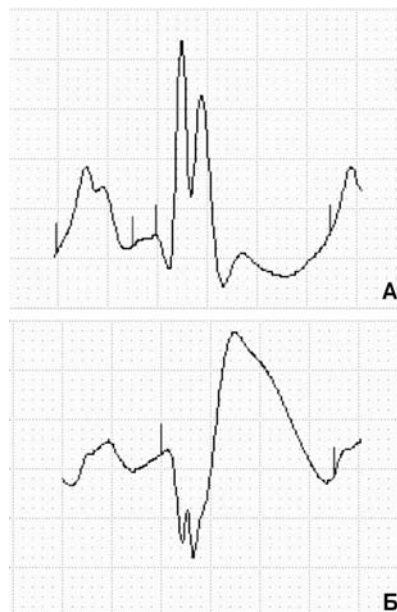


Рис. 1. Электрокардиографические признаки некротического повреждения миокарда.

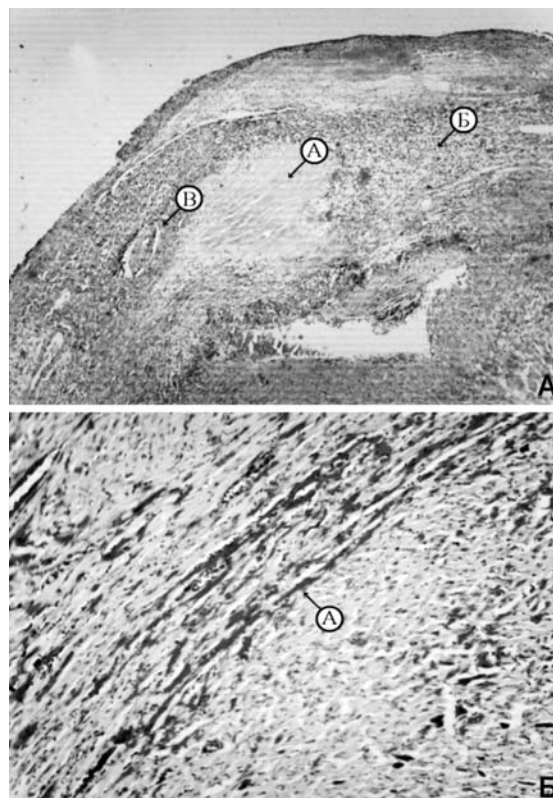


Рис. 2. Гистологический срез участка инфаркта миокарда в некротической стадии: 3-и сут. после окклюзии:

А — окраска гематоксилином и эозином: а — участок некроза кардиомиоцитов; б — выраженная лейкоцитарная инфильтрация; в — артерия. Об.4 x Ок.10.

Б — окраска ГОФП — методом: а — выраженная фуксинофилия кардиомиоцитов. Об.10 x Ок.10.

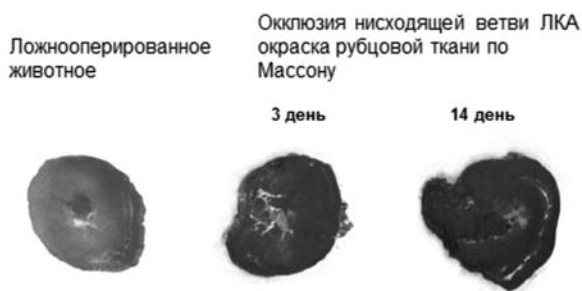


Рис. 3. Морфологическая картина развития трансмурального инфаркта миокарда после окклюзии нисходящей ветви левой коронарной артерии.

3. Активность лактатдегидрогеназы

Исследование общей активности ЛДГ характеризует интенсивность окислительно-восстановительных процессов организма, а определение активности отдельных изоэнзимов ЛДГ способствует диагностике некоторых заболеваний сердца, печени и других органов.

При ИМ общая активность сывороточной ЛДГ увеличивается через 8—12 ч после начала развития заболевания, достигает максимума через 24—48 ч и остается повышенной на протяжении 7 сут. и более. Активность сывороточной лактатдегидрогеназы при ИМ дольше сохраняется повышенной, чем активность других ферментов. Ценность определения данного фермента особенно велика в неясных случаях заболевания, при нетипичной клинической и электрокардиографической картине [14]. Наиболее часто встречается трех- или четырехкратное повышение уровня активности фермента.

В наших исследованиях мы получили увеличение уровня общей активности сывороточной ЛДГ на 3-и сут. в группе ложноперированных животных и животных с развившимся экспериментальным ИМ по сравнению с интактными животными. Значение активности ЛДГ в

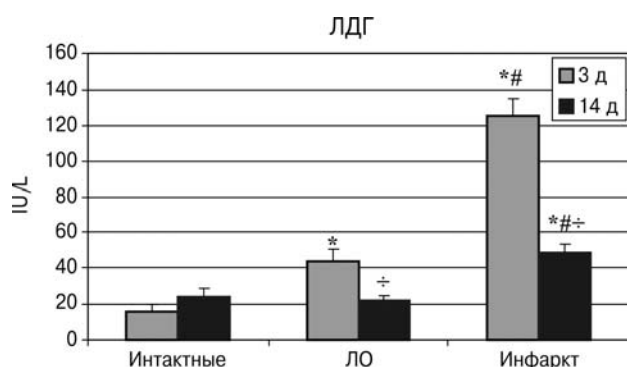


Рис. 4. Уровень общей активности ЛДГ в сыворотке крови интактных, ложноперированных животных и животных с экспериментальным инфарктом миокарда:

* — отличие от группы интактные, $p < 0,001$; # — отличие от группы ложноперированные, $p < 0,001$ (критерий Манна—Уитни); † — сравнение на 3-и и 14-е сут., $p < 0,05$ (критерий Вилкоксона).

группе с необратимой окклюзией левой коронарной артерии составило 125,6 у.е./л, что в 2,8 раза превышала общую активность фермента в группе ложноперированных животных — 43,8 у.е./л. Это может отражать вклад сердечного изофермента ЛДГ в общий количественный показатель активности данного фермента (рис. 4).

4. Лазерная корреляционная спектроскопия

Использование метода лазерной корреляционной спектроскопии для оценки общего направления изменений в сывороточном гомеостазе при развитии экспериментального ИМ у крыс позволило выявить следующие факты.

Обнаружено, что для гистограмм сыворотки крови крыс можно выделить три основных интервала:

- 1 — от 0 до 20,58 нм;
- 2 — от 20,58 до 300,41 нм;
- 3 — свыше 300,41 нм.

На 3-и сут. после окклюзии статистические различия между группами наблюдали только в зоне 1, где зафиксировано увеличение вклада в светорассеяние мелких частиц менее 15 нм у групп ложноперированных животных и животных с экспериментальным ИМ по сравнению с интактными животными. При этом ложноперированная группа и группа с ИМ отличаются между собой только в точке 2,56 нм. Возможно, таким образом, проявляются отличия в сдвигах, обусловленные общей воспалительной реакцией после оперативного вмешательства у крыс обеих групп, от последствий ишемического некроза миокарда у животных с экспериментальным ИМ. Также заметна тенденция к уменьшению вклада в светорассеяние частиц 2-й зоны и увеличение вклада в 3-й зоне в оперированных группах по сравнению с контрольной (рис. 5 А).

Приведенные данные лишь отчасти сопоставимы с результатами, полученными при исследовании сывороток крови пациентов с острым ИМ, поскольку последним проводили терапию с момента поступления в клинику. Тем не менее, выявленное у них аналогичное повышение вклада в светорассеяние частиц менее 70 нм в первые часы и сутки после начала заболевания [7, 12] воспроизведено в наших опытах на животных.

На 14-е сут. наблюдали сходное перераспределение частиц: увеличение вклада в светорассеяние в 1-й зоне, и уже статистически значимое увеличение вклада в 3-й зоне и уменьшение во 2-й у ложноперированной группы и группы с ИМ по сравнению с контролем (рис. 5 Б).

Зная величину молекулярной массы лактатдегидрогеназы (144 кДа), миоглобина (16—20 кДа), тропонинов (18, 24, 37 кДа), белка, связывающего жирные кислоты (15 кДа) и исходя из строения белка как идеальной сферы, размеры (радиус) таких органических соединений находятся в пределах 1,5—3,5 нм [13].

Однако, учитывая реальную структуру белковых молекул и наличие гидратной оболочки, можно полагать, что радиус Стокса этих молекул не превышает 10 нм. Можно предположить, что увеличение вклада мелких частиц в ЛК-спектры, отражает повышение уровня этих белков в крови при миокардиальном некрозе.

После первой недели лечения пациентов с ИМ наблюдали увеличение вклада в светорассеяние частиц средних размеров [11]. Из рис. 5 видно, что в отсутствии терапии у экспериментальных животных этот эффект не зафиксирован. Было также показано, что использование тромболитической терапии у больных острым ИМ сопровождалось увеличением вклада в ЛК-спектры частиц с гидродинамическим радиусом более 150 нм.

У пациентов с ИМ в первые часы после инфаркта выявлены различия в субфракционном составе сыворотки крови в зависимости от типа развития заболевания: в сыворотке пациентов с глубоким патологическим зубцом Q преобладали частицы размером <10 нм [9], а у пациентов с ИМ без зубца Q в сыворотке преобладали частицы размером — >150 нм [11]. Из данных, приведенных на рис. 6, видно, что сходная картина наблюдается при сравнении ЛК-спектров экспериментальных групп животных с подтвержденным гистологическими методами трансмуральным и нетрансмуральным ИМ.

Таким образом, экспериментальный ИМ у крыс приводит к возникновению каскада биохимических и иммунных реакций, итогом которых являются воспалительные, дистрофические, катаболические и некротические процессы. Электрокардиографические изменения желудочкового комплекса, гистологические исследования и повышение уровня сывороточной активности ЛДГ отражают процесс формирования очагового некроза миокарда с последующим рубцеванием и развитием постинфарктного кардиосклероза. Увеличение вклада в светорассеяние мелких частиц, изменение соотношения частиц среднемoleкулярной фракции свидетельствуют о накоплении в сыворотке крови продуктов катаболизма, увеличении уровня отдельных сывороточных белков, нарушении обменных процессов.

Изменения в субфракционном составе сыворотки крови у животных с экспериментальным ИМ сходны с таковыми у пациентов с подтвержденным в клинике диагнозом ИМ. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности использования ЛКС в качестве дополнительного к общепринятым методам диагностики ИМ в эксперименте и клинике. Этот метод можно также использовать в качестве критерия риска развития осложнений при острой сердечной недостаточности, для прогноза при нарушениях кровоснабжения миокарда и для оценки эффективности проводимой терапии.

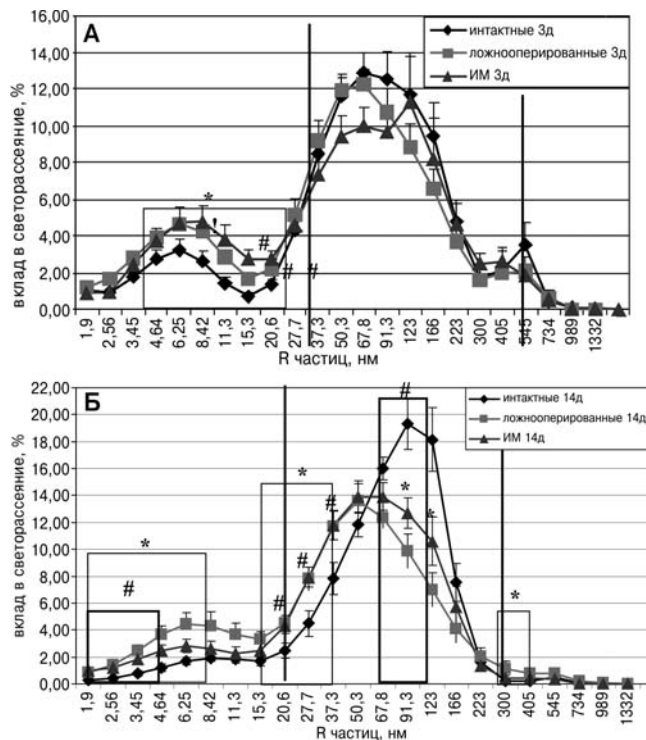


Рис. 5. ЛК-спектры сыворотки крыс: А — на 3-и сут. после окклюзии; Б — ЛК-спектры крыс на 14-е сут. после окклюзии. * — сравнение интактной группы с ложнооперированной группой, $p < 0,05$; # — сравнение интактной группы с инфарктом, $p < 0,05$ (критерий Манна—Уитни).

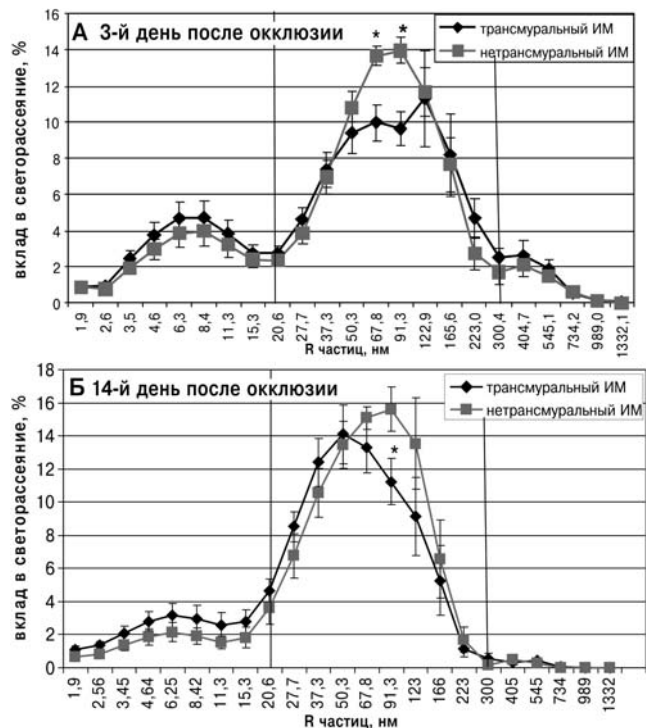


Рис. 6. Отличия ЛКС-спектров трансмурального ИМ и нетрансмурального ИМ: А — 3-и сут. после окклюзии; Б — 14-е сут. после окклюзии. * — сравнение трансмурального ИМ и нетрансмурального ИМ (критерий Манна—Уитни).

Список литературы

1. *Аклев А.В., Пашков И.А., Клопов Н.В., Лебедев А.Д., Силина А.Г., Павлов М.Ю., Носкин Л.А.* Дифференциальные возможности метода ЛКС при диагностике различных патологических процессов, встречаемых среди населения Уральского радиационного следа // Радиационная биология. Радиоэкол. — 1995. — Т. 35, №6. — С. 829—835.
2. *Алещенко А.В., Алчинова И.Б., Дмитриева О.С., Дмитриева Г.П., Карганов М.Ю., Кожевникова М.И., Носкин Л.А., Серебряный А.М., Хлебникова Н.Н., Пелевина И.И.* Использование цитогенетического метода исследования буккального эпителия и метода лазерной корреляционной спектроскопии для мониторинга нарушений в организме детей // Цитология. — 2006. — Т. 48, №2. — С. 169—172.
3. *Архипова Е.Н., Дедаев С.И., Алчинова И.Б., Чернов А.Б., Goldenberg L., Карганов М.Ю.* Исследование взаимодействия наночастиц диоксида титана и сыворотки крови больных аутоиммунными заболеваниями // Патогенез. — 2011. — №1. — С. 67—70.
4. *Гнездилова А.В., Ганьшина Т.С., Мирзоян Р.С., Лебедева М.А.* Мексидол и сочетанная сосудистая патология мозга и сердца // Экспер. и клин. Фармакология. — 2011. — Т. 74, №6. — С. 20—23.
5. *Карганов М.Ю., Макаров Р.В., Щеголев А.А., Спиридонова Е.А., Пасько В.Г., Самигулина Г.Р., Алчинова И.Б., Архипова Е.Н., Лыхин В.Н.* Перспективы использования метода лазерной корреляционной спектроскопии в клинической практике // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2012. — №1. — С. 20—26.
6. *Ковалева О.И., Ушаков А.А., Лебедева М.А., Хлебникова Н.Н., Горбунова Н.А., Карганов М.Ю.* Новые подходы к ранней диагностике заболеваний системы крови // Кремлевская медицина. — 2004. — 3. — С. 11—13.
7. *Ковальчук Ю.П., Носкин Л.А., Ланда С.Б., Бажора Ю.И., Поляков А.У., Хижняк Е.В.* Экспресс-диагностика ургентных состояний по оценке гомеостаза методом лазерной корреляционной спектроскопии // Клинико-лабораторный консилиум. — 2005. — №7. — С. 21—23.
8. *Пирузян Л.А., Ковалев И.Е., Ковалева В.Л., Тюменцева Е.С., Карганов М.Ю., Балаболкин И.И., Ковалева О.И., Румянцова Е.И.* Лазерная корреляционная спектроскопия макромолекулярных комплексов в сыво-

ротке крови как эффективный метод оценки течения заболевания бронхиальной астмой у детей // Докл. Академии наук. — 2004. — Т. 395, №6. — С. 832—836.

9. *Поляков А.У., Хижняк Е.В.* Субфракционный состав сыворотки крови у больных с инфарктом миокарда // Врачебная практика. — 2004. — №4. — С. 26—29.

10. *Румянцова Е.И., Ковалев И.Е., Ковалева О.И., Карганов М.Ю.* Лазерная корреляционная спектроскопия макромолекулярных комплексов как эффективный метод выявления передозировки инсулина и коррекции инсулинотерапии при сахарном диабете у детей // Докл. Академии наук. — 2005. — Т. 402, №3. — С. 1—4.

11. *Хижняк Е.В.* Диагностическая и прогностическая значимость исследования субфракционного состава сыворотки крови у больных с острым инфарктом миокарда: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — Харьков, 2008.

12. *Хижняк Е.В.* Оценка риска развития осложнений у больных с острым инфарктом миокарда на основании исследования субфракционного состава сыворотки крови посредством лазерной корреляционной спектроскопии в сравнении с определением тропонина I // Медицина неотложных состояний. — 2008. — №4. — С. 60—64.

13. *Erickson H.P.* Size and Shape of Protein Molecules at the Nanometer Level Determined by Sedimentation, Gel Filtration, and Electron Microscopy // Biological Procedures Online. — 2009. — Vol. 11, №1. — P. 32—51. DOI: 10.1007/s12575-009-9008-x.

14. *Giju S., Putz M.V., Chiriak A.* On specific vs. non specific enzymic inter-activity in acute myocardial infarction // Digest Journal of Nanomaterials and biostructures. — 2010. — Vol. 5, №1. — P. 567—574.

15. *Rosalki S.B., Roberts R., Katus H.A., Giannitis T., Ladenson J.H.* Cardiac biomarkers for detection of myocardial infarction: perspectives from past to present // Clinical Chemistry, 2004. — Vol. 50, 11. — P. 2205—2213.

16. *Seropian I.M., Gonzalez G.E.* Experimental Myocardial Infarction // Experimental Surgical Models in the Laboratory Rat / Ed. A. Rigalli, V.E. Di Loreto. — CRC Press. — P. 201—205.

Поступила 18.09.13

Сведения об авторах:

- Медведева Юлия Сергеевна*, мл. науч. сотр., лаб. полисистемных исследований ФГБУ «НИИ ОПП» РАМН
Мирзоян Рубен Симонович, д-р биол. наук, проф., рук. лаб. цереброваскулярных расстройств ФГБУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» РАМН
Масленников Денис Вадимович, мл. науч. сотр. лаб. цереброваскулярных расстройств ФГБУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» РАМН;
Золотов Николай Николаевич, д-р биол. наук, проф. главн. науч. сотр. лаб. психофармакологии ФГБУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» РАМН
Карганов Михаил Юрьевич, д-р биол. наук, проф. рук. лаб. полисистемных исследований ФГБУ «НИИ ОПП» РАМН