

КОРРЕКЦИЯ

ω -3 полиненасыщенными жирными кислотами нарушений энергетических процессов в тканях головного мозга крыс при субтотальной церебральной ишемии

Елизавета Бонь,

доцент кафедры патологической физиологии Гродненского государственного медицинского университета, кандидат биологических наук; asphodela@list.ru

Наталья Максимович,

завкафедрой патологической физиологии ГрГМУ, доктор медицинских наук, профессор; mne@grsmu.by

Иосиф Дремза,

доцент кафедры патологической физиологии ГрГМУ, кандидат биологических наук; idremza@rambler.ru

Ольга Карнюшко,

доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГрГМУ, кандидат биологических наук; karnyushko-olga@mail.ru

Сергей Зиматкин,

завкафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ГрГМУ, доктор биологических наук, профессор; smzimatkin@mail.ru

Александра Койко,

студентка 3-го курса педиатрического факультета ГрГМУ; alexandrakoiko@yandex.by

Виолетта Шевчук,

студентка 3-го курса педиатрического факультета ГрГМУ; violetta.shev00@mail.ru

Мария Лычковская,

студентка 4-го курса педиатрического факультета ГрГМУ; lychkovskaya.m@gmail.com

Аннотация. В процессе работы изучены показатели дыхания митохондрий гомогенатов головного мозга и содержания АТФ-синтазы у крыс с ишемией головного мозга и в условиях введения ω -3 полиненасыщенных жирных кислот, обладающих противовоспалительным действием, регулирующих сосудистый тонус и препятствующих вазоконстрикции сосудов под влиянием катехоламинов, что обуславливает умеренный вазодилататорный эффект, а также оказывающих корректирующее действие в отношении митохондриального дыхания. Отмечается их благоприятное влияние на структуры гиппокампа при субтотальной ишемии головного мозга и меньшая выраженность проявлений неврологического дефицита, по сравнению с группой без их введения.

Ключевые слова: АТФ-синтаза, нейроны, ишемия головного мозга, митохондрии, ω -3 полиненасыщенные жирные кислоты, АДФ.

Для цитирования: Бонь Е., Максимович Н., Дремза И., Карнюшко О., Зиматкин С., Койко А., Шевчук В., Лычковская М. Коррекция ω -3 полиненасыщенными жирными кислотами нарушений энергетических процессов в тканях головного мозга крыс при субтотальной церебральной ишемии // Наука и инновации. 2022. №5. С. 78-83. <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2022-5-78-83>

УДК 616.831.31-005.4.-092.913:618.33

Энергообмен в клетке связан с митохондриями, которые играют важную роль в процессах жизнедеятельности, участвуя не только в образовании АТФ, но и в хранении и передаче наследственной информации, апоптозе и пластических процессах. Наиболее характерная их особенность – наличие большого числа ферментов, задействованных в окислительном фосфорилировании и снабжении клетки энергией [1–8].

Существует ряд молекулярных маркеров энергетической активности митохондрий, среди которых одним из основных является АТФ-синтаза – интегральный белок внутренней

мембраны митохондрий, опосредующий образование АТФ из АДФ [3, 9].

Нейроны головного мозга (ГМ) – электрически активные клетки, богатые ионными каналами, в обеспечении функционирования которых важная роль принадлежит ω -3полиненасыщенным жирным кислотам (ω -3ПНЖК), участвующим в регуляции физиологических процессов путем синтеза липидных медиаторов, передаче импульсов, работе рецепторов, влияющих на текучесть клеточных мембран [10, 11, 13, 15–17]. Это предполагает целесообразность изучения их воздействия на энергообмен у крыс с ишемией головного мозга (ИГМ). Цель исследования – оценить нарушения энергетических процессов в тканях ГМ у животных с этим состоянием и возможность их коррекции ω -3полиненасыщенными жирными кислотами. В процессе работы изучены показатели дыхания митохондрий гомогенатов ГМ и содержания АТФ-синтазы у крыс с ИГМ и в условиях введения ω -3ПНЖК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 18 самцах беспородных белых крыс массой 260 ± 20 г с соблюдением требований Директивы Европейского парламента и Совета ЕС №2010/63/EU от 22.09.2010 г. о защите животных, использующихся для научных целей. Выбор обусловлен сходством ангиоархитектоники ГМ крыс и человека.

Моделирование ИГМ осуществляли в условиях внутривенного тиопенталового наркоза (40–50 мг/кг). Субтотальную ишемию головного мозга (СИГМ) – путем одномоментной перевязки обеих общих сонных артерий (ОСА). Забор материала происходил через 1 час для изучения тканевого дыхания митохондрий и определения содержания АТФ-синтазы.

Для выявления эффектов ω -3ПНЖК животным до ИГМ в течение 1 недели внутрижелудочно вводили данные кислоты в дозе 5 г/кг массы тела. Контрольную группу составили ложно оперированные крысы аналогичных пола и веса.

После декапитации животного правое полушарие использовалось для изучения содержания АТФ-синтазы, а левое – для определения дыхания митохондриальной фракции.

Для исследования митохондриального дыхания головной мозг извлекали на холоде (0–4 °С), осушали фильтровальной бумагой, взвешивали и гомогенизировали в среде выделения, содер-

жащей 0,32 М сахарозы, 10 мМ Трис-НСl, 1 мМ ЭДТА, рН 7,4 (в соотношении 1:10) с помощью гомогенизатора Поттера-Эвельгейма с тефлоновым пестиком согласно модифицированному классическому методу Lai и Clark (1979).

Митохондрии получали изолированным методом дифференциального центрифугирования. Ядерную фракцию отделяли при 600 g в течение 10 мин (4 °С). Полученный супернатант центрифугировали при 8500 g в течение 10 мин (4 °С), митохондриальный осадок дважды промывали в среде выделения и ресуспендировали до концентрации белка 35–40 мг/мл в среде выделения и хранили в короткой пробирке на льду. Концентрацию белка определяли по методу Лоури.

Для изучения митохондриального дыхания концентрированную суспензию митохондрий вносили в термостатируемую герметичную полярографическую ячейку со средой инкубации, включающей

0,17 М сахарозу, 40 мМ КCl, 10 мМ Трис-НСl, 5 мМ KH_2PO_4 , 8 мМ KHCO_3 , 0,1 мМ ЭДТА, рН 7,4, в количестве, обеспечивающем конечную концентрацию белка в ячейке 1 мг/мл.

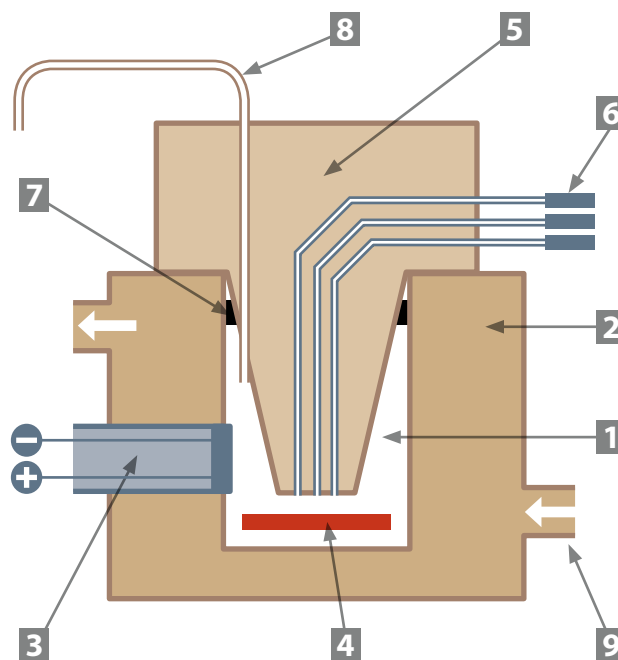


Рис. 1. Полярографическая ячейка для исследования респираторной активности митохондрий: 1 – ячейка; 2 – термостатируемая камера; 3 – электрод Кларка; 4 – магнитная мешалка; 5 – герметизирующая пробка; 6 – каналы для дозированной аэробной или анаэробной подачи субстратов и АДФ; 7 – уплотнительное кольцо; 8 – канал для отвода воздуха и избытка жидкости; 9 – штуцер для подключения к ультра-термостату

Принцип работы полярографической ячейки объемом 3 мл основан на регистрации поглощения кислорода митохондриями с помощью встроенного электрода Кларка при температуре 25 °С (рис. 1).

Регистрация изменений напряжения кислорода (pO_2) в суспензии митохондрий осуществлялась с помощью электронного регистратора КСП-4.

Калибровку электрода Кларка проводили путем последовательного продувания через ячейку воздуха (pO_2 воздуха) и газообразного азота ($pO_2=0$ мм рт. ст.).

После регистрации скорости базального (эндогенного) дыхания при отсутствии субстрата (V_1) в суспензию митохондрий поочередно вводили субстраты дыхания (малат – 2 мМ /глутамат – 5 мМ или сукцинат – 5 мМ), а затем АДФ в количестве 200 нмоль/мл.

По полученным полярограммам рассчитывали скорость дыхания митохондрий в разных метаболических состояниях и коэффициенты, характеризующие сопряжение процессов окисления и фосфорилирования.

Регистрировали следующие показатели дыхания митохондрий: V_1 – скорость базального дыхания, V_2 – скорость субстрат-зависимого дыхания, V_3 – скорость дыхания, сопряженного с фосфорилированием (после внесения АДФ), V_4 – скорость дыхания после завершения фосфорилирования добавленного АДФ. Определяли также коэффициенты акцепторного контроля ($AK=V_3/V_2$), дыхательного контроля ($DK=V_3/V_4$) и фосфорилирования – АДФ/О, характеризующие сопряжение процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях [12].

Использование растворов субстратов сукцината и комплекса малат/глутамат позволяло оценить степень функциональной активности цепи переноса электронов (ЦПЭ) в митохондриях в целом, в особенности – I и II комплекса ЦПЭ [12].

Содержание АДФ-синтазы определялось иммуногистохимическим методом с использованием моноклональных антител. С этой целью после декапитации у крыс быстро извлекали головной мозг, кусочки коры больших полушарий головного мозга фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде при +4 °С (на ночь), затем заключали в парафин [1].

Парафиновые срезы толщиной 5 мкм готовили с помощью микротомы, монтировали на предметные стекла. Препараты обрабатывали согласно протоколу иммуногистохимической реакции для

световой микроскопии, исключающей процедуру теплового демаскирования антигенов. Для определения иммунореактивности молекулярного маркера митохондрий АДФ-синтазы (комплекса V, образующего АДФ из АДФ) применяли первичные моноклональные мышинные антитела (Anti-ATP5A antibody, Abcam, Великобритания, ab. 14748) в разведении 1:2400 при +4 °С, с экспозицией 20 ч во влажной камере. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор детекции EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit Abcam (Великобритания, ab. 80436). Иммунореактивность АДФ-синтазы изучали в цитоплазме нейронов пятого слоя теменной коры и нейронов поля СА1 гиппокампа в иммуногистохимических препаратах на основе величины оптической плотности осадка хромогена с помощью микроскопа Axioscop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры (LeicaDFC320, Германия) и программы анализа изображения ImageWarp (Bitflow, США).

Для предотвращения систематической ошибки измерений образцы головного мозга от сравниваемых контрольной и опытных групп животных изучали в одинаковых условиях.

В результате исследований получены количественные непрерывные данные. Так как в эксперименте использованы малые выборки, которые имели ненормальное распределение, анализ проводили методами непараметрической статистики с помощью лицензионной компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). Данные представлены в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ – значение нижнего квартиля; UQ – значение верхнего квартиля. Различия между группами считали достоверными при $p<0,05$ (тест Крускаллы-Уоллиса с поправкой Бонферони) [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Субтотальная ишемия головного мозга, вызванная перевязкой обеих общих сонных артерий у крыс, сопровождалась существенными нарушениями митохондриального дыхания клеток ГМ. Изучение его показателей свидетельствует о том, что в группе «СИГМ» продолжительностью 1 ч, по сравнению с группой «контроль», в присутствии малата/глутамата V_2 увеличилась на 24 (18; 27)%, $p<0,05$, а коэффициент акцепторного контроля и коэффициент фосфорилирования уменьшились на 25 (17; 29)%, $p<0,05$.

Группы	V ₁ (нг ат О/ минхмг белка)	V ₂ (нг ат О/ минхмг белка)	V ₃ (нг ат О/ минхмг белка)	V ₄ (нг ат О/ минхмг белка)	(V ₃ /V ₂) коэффициент акцепторного контроля	(V ₃ /V ₄) коэффициент дыхательного контроля	(АДФ/О) коэффициент фосфорили- рования
Субстрат «малат/глутамат»							
Контроль	18 (14; 19)	27 (26; 27)	51 (48; 56)	31 (27; 34)	2,0 (1,8; 3,0)	1,6 (1,6; 1,7)	2,0 (1,9; 2,1)
СИГМ	18 (18; 24)	36* (35; 38)	50 (48; 51)	32 (30; 37)	1,5* (1,3; 1,5)	1,4 (1,3; 1,6)	1,5* (1,4; 1,5)
СИГМ+ω-3ПНЖК	17 (16; 18)	34* (33; 36)	56 (51; 61)	37 (35; 39)	1,6** (1,6; 1,7)	1,5 (1,4; 1,6)	1,8# (1,7; 1,9)
Субстрат «сукцинат»							
Контроль	17 (15; 17)	34 (28; 36)	66 (65; 68)	38 (36; 40)	1,2 (1,9; 2,0)	1,8 (1,7; 1,9)	1,9 (1,8; 1,9)
СИГМ	27* (19; 27)	39* (36; 42)	50* (48; 54)	40 (37; 41)	1,3* (1,2; 1,3)	1,4* (1,2; 1,4)	1,2* (1,1; 1,2)
СИГМ+ω-3ПНЖК	15# (14; 18)	35 (34; 36)	65# (64; 68)	37 (36; 38)	1,8# (1,8; 1,9)	1,8# (1,4; 1,8)	1,4** (1,4; 1,5)

Таблица 1. Показатели дыхания митохондриальной фракции гомогенатов головного мозга крыс с субтотальной церебральной ишемией и на фоне введения ω-3 полиненасыщенных жирных кислот при использовании субстратов «малат/глутамат» и «сукцинат», Ме (LQ; LU)

Примечания: * – p<0,05 – по отношению к значениям в группе «контроль», # – p<0,05 – по отношению к значениям в группе «СИГМ», ω-3ПНЖК – ω-3 полиненасыщенные жирные кислоты

Остальные показатели (V₁, V₃, V₄, коэффициент дыхательного контроля) не изменялись (p>0,05).

В присутствии субстрата сукцината отмечено увеличение скоростей базального дыхания V₁ – на 38 (34; 42)%, субстрат-зависимого дыхания V₂ – на 13 (9; 18)%, дыхания, сопряженного с фосфорилированием V₃, – на 26 (21; 32)%, p<0,05.

По сравнению с группой «СИГМ», в группе «СИГМ+ ω-3ПНЖК» в присутствии субстрата «малат/глутамат» происходило увеличение коэффициентов акцепторного контроля на 7 (2; 11)%, p<0,05 и фосфорилирования на 18 (11; 23)%, p<0,05 (табл. 1).

В присутствии субстрата «сукцинат» скорость V₁ была меньше (на 44 (39; 51)%, p<0,05), а V₃ – больше (на 20 (18; 29)%, p<0,05). Данные изменения свидетельствуют об увеличении сопряженности процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях головного мозга крыс с СИГМ при введении ω-3ПНЖК. Коэффициенты акцепторного контроля, дыхательного контроля и фосфорилирования увеличились на 30 (21; 42)%, 25 (19; 29)% и 13 (9; 22)%, p<0,05 соответственно, что сви-

детельствует об активации митохондриального дыхания в условии использования ω-3ПНЖК.

Однако полной коррекции энергетических нарушений не происходило. Так, по сравнению с контролем, в группе «СИГМ+ω-3ПНЖК» в присутствии субстрата «малат/глутамат» отмечено увеличение скорости V₂ (на 20 (18; 32)%, p<0,05) и уменьшение коэффициента акцепторного контроля (на 21 (17; 33)%, p<0,05), а в присутствии сукцината отмечалось уменьшение коэффициента фосфорилирования на 25 (19; 31)%, p<0,05. А в группе «СИГМ» содержание АТФ-синтазы уменьшилось на 45 (38; 53)% – в теменной коре (p<0,05) и на 39 (31; 46)% – в гиппокампе (p<0,05).

Введение ω-3ПНЖК не оказало эффекта на уровень активности АТФ-синтазы в цитоплазме нейронов теменной коры у крыс с СИГМ по сравнению с группой СИГМ без введения ω-3ПНЖК (p>0,05), (табл. 2, рис. 2, 3).

Однако в нейронах гиппокампа головного мозга крыс, получавших ω-3ПНЖК, отмечалось увеличение содержания АТФ-синтазы,

Группы	Содержание АТФ-синтазы/единицы оптической плотности	
	теменная кора	гиппокамп
Контроль	0,198 (0,193; 0,209)	0,181 (0,176; 0,183)
СИГМ	0,109 (0,103; 0,121)*	0,107 (0,104; 0,115)*
СИГМ+ ω-3 ПНЖК	0,122 (0,121; 0,125)*	0,136 (0,133; 0,144)* #

Таблица 2. Содержание АТФ-синтазы в цитоплазме пирамидных нейронов теменной коры и поля СА1 гиппокампа головного мозга крыс с СИГМ и введением ω-3ПНЖК, Ме (LQ; UQ)

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с группой контроль, # – p<0,05 по сравнению с группой СИГМ, СИГМ – субтотальная ишемия головного мозга, ω-3ПНЖК – ω-3 полиненасыщенные жирные кислоты

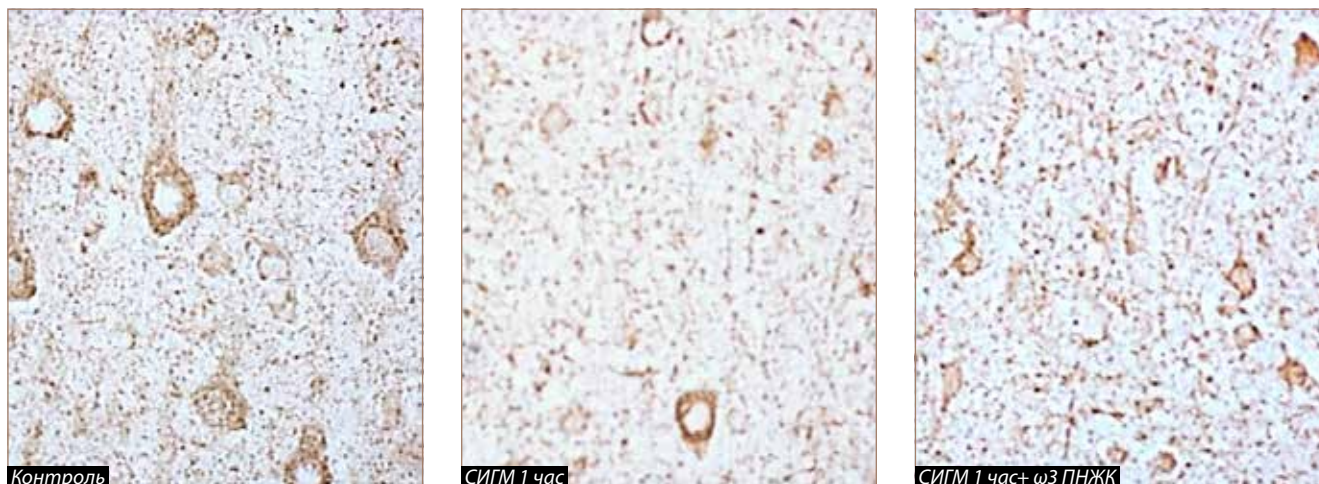


Рис. 2. Содержание АТФ-синтазы в цитоплазме пирамидных нейронов теменной коры головного мозга крыс с СИГМ и введением ω-3 полиненасыщенных жирных кислот. Цифровая микрофотография. Увелич. 40

по сравнению с группой «СИГМ», на 20 (11; 35)%, $p < 0,05$. По сравнению с контролем, фермента в гиппокампе оставалось на 26 (19; 32)% меньше, а без введения ω-3 ПНЖК было на 39 (31; 46)% меньше, $p < 0,05$.

Существенно улучшились параметры дыхания митохондрий при использовании в качестве субстрата сукцината в группе животных с СИГМ, получавших ω-3 ПНЖК. При применении в качестве субстрата малата/глутамата наблюдалась та же тенденция в изменении дыхания, что и в случае с сукцинатом, однако в последнем случае она была более выражена. Кроме того, значительно нарушалась работа V комплекса цепи тканевого дыхания, что связано с низким содержанием АТФ-синтазы.

Известно, что даже кратковременная церебральная ишемия ведет к глубоким повреждениям нервной ткани по причине недостаточной оксигенации нейронов, снижения энергообразования, нарушения транспорта потенциалопределяющих ионов, кислотно-основного состояния, эксайтотоксичности, окислительного стресса и апоптоза. В начале возникают молекулярные и ультраструктурные изменения, в большинстве случаев обратимые [13].

Таким образом, ω-3 полиненасыщенные жирные кислоты оказывают корригирующее действие в отношении митохондриального дыхания, что согласуется с ранее полученными данными о их благоприятном влиянии на структуры гиппокампа в условиях субтотальной ишемии голов-

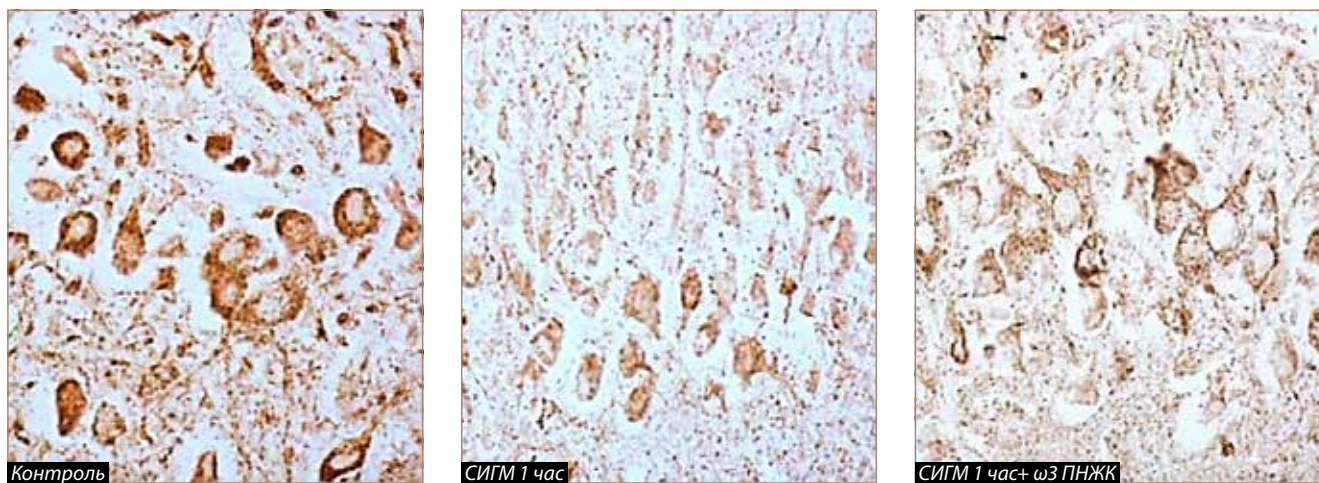


Рис. 3. Содержание АТФ-синтазы в цитоплазме пирамидных нейронов поля СА1 гиппокампа головного мозга крыс с СИГМ и введением ω-3 полиненасыщенных жирных кислот. Цифровая микрофотография. Увелич. 40

ного мозга (уменьшение количества клеток-теней и гиперхромных сморщенных нейронов) [13] и о меньшей выраженности проявлений неврологического дефицита, по сравнению с группой без их введения [5].

Благоприятный эффект воздействия полиненасыщенных жирных кислот на состояние нейронов коры ГМ в условиях субтотальной церебральной ишемии может быть обусловлен улучшением реологических свойств крови вследствие уменьшения выработки тромбоксана А и увеличения уровня тканевого активатора плазминогена, а также повышением текучести мембран нейронов, снижением вязкости крови [15–17]. ω -3 ПНЖК также обладают противовоспалительным действием вследствие их встраивания в фосфолипидный слой клеточных мембран моноцитов, лейкоцитов, эндотелиальных клеток, что сопровождается уменьшением выработки медиаторов воспаления и уменьшением адгезии лейкоцитов к эндотелиальной стенке. Кроме того, полиненасыщенные жирные кислоты регулируют сосудистый тонус и препятствуют вазоконстрикции сосудов под влиянием катехоламинов, что обуславливает умеренный вазодилаторный эффект [10, 11]. Нейроны гиппокампа, как филогенетически более старое отдела коры, менее чувствительны к гипоксии, что является возможной причиной терапевтического действия ω -3 ПНЖК в отношении АТФ-синтазы и показателей дыхания митохондриальной фракции гомогенатов головного мозга, особенно при использовании в качестве субстрата сукцината. ■

■ **Summary.** In the course of the work, the parameters of respiration of mitochondria of brain homogenates and the content of ATP synthase in rats with cerebral ischemia and under conditions of administration of ω -3 polyunsaturated fatty acids were studied. ω -3 polyunsaturated fatty acids have an anti-inflammatory effect due to their incorporation into the phospholipid layer of cell membranes of monocytes, leukocytes, endothelial cells, which is accompanied by a decrease in the production of inflammatory mediators and a decrease in leukocyte adhesion to the endothelial wall. Polyunsaturated fatty acids regulate vascular tone and prevent vascular vasoconstriction under the influence of catecholamines, which causes a moderate vasodilatory effect. ω -3 polyunsaturated fatty acids have a corrective effect on mitochondrial respiration, their beneficial effect on the structures of the hippocampus in conditions of subtotal cerebral ischemia and a lesser severity of manifestations of neurological deficit, compared with the group without their administration, are noted.

■ **Keywords:** ATP synthase, neurons, cerebral ischemia, mitochondria, ω -3 polyunsaturated fatty acids, ADP.
 ■ <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2022-5-78-83>

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Е.И. Бонь. Роль митохондрий в энергетике клетки и характеризующие ее молекулярные маркеры / Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович // Оренбургский медицинский вестник. 2019. №1. С. 47–52.
2. Е.И. Бонь. Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга / Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович // Биомедицина. 2018. №2. С. 59–71.
3. M.D. Brand, M.P. Murphy. Control of electron flux through the respiratory chain in mitochondria and cells // Biological Review. 1987. №62. P.141–193.
4. R.P. Casey. Membrane reconstruction of the energy-conserving enzymes of oxidative phosphorylation // Biochemistry Acta. 1984. №768. P. 319–347.
5. J.W. DePierre, L. Ernster. Enzyme topology of intracellular membranes // Review Biochemistry. 1988. №46. P.201–261.
6. P. Pecina, H. Nuskova, V. Karbanova, V. Kaplanova. Role of the mitochondrial ATP synthase central stalk subunits γ and δ in the activity and assembly of the mammalian enzyme // Acta Bioenergetics. 2018. №1859(5). P. 374–381.
7. R.C. Prince. The proton pump of cytochrome oxidase // Trends Biochemistry Science. –1988. №13. P.159–160.
8. P.A. Srere. The structure of the mitochondrial inner membrane-matrix compartment // Trends Biochemistry Science. 1982. №7. P.375–378.
9. P.D. Boyer. ATP synthase – past and future // Biochim. Biophys. Acta. 1998. 1365. 3–9.
10. Л.Е. Беляева. Раннее программирование заболеваний человека и использование нутрицевтиков с профилактической целью: фокус на рыбий жир / Л.Е. Беляева, А.Н. Павлюкевич // Вестник ВГМУ. 2019. №5. С. 12–25.
11. Л.Е. Беляева. Раннее программирование заболеваний человека и использование нутрицевтиков с профилактической целью: фокус на рыбий жир / Л.Е. Беляева, А.Н. Павлюкевич // Вестник ВГМУ. 2019. №4. С. 7–16.
12. Современные проблемы биохимии. Методы исследований: Монография / Е.В. Барковский, С.Б. Бокуть, А.Н. Бородинский, В.У. Буко, Е.М. Дорошенко, И.К. Дремза, А.С. Дроздов, В.Ю. Смирнов. – Минск, 2013.
13. Компьютерный статистический анализ данных: учеб.-метод. пособие / Н.В. Батин. – Минск, 2008.
14. Головной мозг крысы и его реакция на ишемию: Монография / Н.Е. Максимович, Е.И. Бонь, С.М. Зиматкин. – Гродно, 2020.
15. L.I. Bon. Vasoprotective Effects of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Cerebral Ischemia / L.I. Bon, N. Ye. Maksimovich // International Journal of Cardiology and Cardiovascular Disorder. – 2021. – №2. – P. 1–5.
16. K. Kaliannan. Multiomic analysis in transgenic mice implicates omega-6/omega-3 fatty acid imbalance as a risk factor for chronic disease / K. Kaliannan, X.Y. Li, B. Wang // Commun Biology. 2019. №2(1). P. 276–280.
17. D. Khunt. Role of Omega-3 Fatty Acids and Butter Oil in Targeting Delivery of Donepezil Hydrochloride Microemulsion to Brain via the Intranasal Route: a Comparative Study / D. Khunt, M. Shrivastava, S. Polaka // Pharmacology Scientific Technology. 2020. №21(2). P. 45–50.

Статья поступила в редакцию 08.12.2021 г.