

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-3-85-97>

# ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ МИКРОДИАЛИЗА ГОЛОВНОГО МОЗГА И СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕЙРОБИОЛОГИИ И НЕЙРОХИМИИ

ХАРИТОНОВА Е.В.<sup>1\*</sup>, ЛОПАТИНА О.Л.<sup>1,2</sup>, МАРЧЕНКО С.А.<sup>1</sup>, ГОРИНА Я.В.<sup>1</sup>, САЛМИНА А.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Красноярск, Россия

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск, Россия

## Резюме

Благодаря своей универсальности микродиализ представляет собой популярный метод, используемый в различных областях, особенно в фармакологии, неврологии и биомедицинских исследованиях. Потенциальная и ценная роль этого метода заключается в использовании этой техники в качестве локального устройства для взятия проб и решения задач метаболизма, тем самым обнаружения молекул-маркеров и следов фармакотерапевтических вмешательств. В настоящее время микродиализ чаще используется в качестве метода сбора или распределения определенного вещества в определенном месте. Этот метод успешно применяется в различных исследованиях, где необходим отбор несвязанных эндогенных и экзогенных веществ из внеклеточной жидкости широкого спектра тканей организма, доставка лекарств в ткани-мишени и даже в качестве инструмента для мониторинга веществ в тканевой инженерии. Микродиализ является малоинвазивным средством обеспечения практически непрерывного измерения метаболизма любого органа или ткани, в том числе и головного мозга, который позволяет обнаружить признаки клеточного дистресса до системных проявлений. Церебральный микродиализ является безопасным методом мониторинга региональной биохимии мозга. Анализ биологической жидкости центральной нервной системы может помочь в принятии кли-

нических решений, ориентировать фармакотерапию и помочь в прогнозировании результатов лечения пациентов. Межклеточные взаимодействия, влияния гормонов, цитокинов, нейромедиаторов, продукция внеклеточной жидкости (в том числе и ликвора), а также площадь и тип поверхности мембраны направляющей канюли, скорость подачи изотонической жидкости, которая регулируется шприцевым и плунжерным насосами, влияют на финальные концентрации целевых компонентов в диализате. Вышеперечисленные параметры тесно связаны между собой и при их несоблюдении в процессе анализа впоследствии могут быть выявлены неточности. В данной публикации рассматриваются основные аспекты и параметры, которые могут оказать влияние на процесс сбора анализа и его содержание, а также области применения микродиализа в нейробиологии и нейрохимии.

**Ключевые слова:** микродиализ, головной мозг, нейродегенеративные заболевания, нейробиология, нейрохимия

## Конфликт интересов

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

## Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ РФ (НШ-2547.2020.7).

## Для цитирования:

Харитонов Е. В., Лопатина О. Л., Марченко С. А., Горина Я. В., Салмина А. Б. Основные принципы микродиализа головного мозга и современные возможности его применения в экспериментальной нейробиологии и нейрохимии. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2020; 5(3):85-97. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-3-85-97>

## \*Корреспонденцию адресовать:

Харитонов Е.В. и др.  
Харитонов Е.В. и др., 660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, e-mail: [ekaterinav1201@gmail.com](mailto:ekaterinav1201@gmail.com)

## REVIEW ARTICLE

BRAIN MICRODIALYSIS IN NEUROBIOLOGY  
AND NEUROCHEMISTRYEKATERINA V. KHARITONOVA<sup>1</sup> \*\*, OLGA L. LOPATINA<sup>1,2</sup>, SERGEY A. MARCHENKO<sup>1</sup>, YANA V. GORINA<sup>1</sup>, ALLA B. SALMINA<sup>1</sup><sup>1</sup>Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation<sup>2</sup>Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

## English ►

## Abstract

Microdialysis is a versatile and popular minimally invasive technique which enables sampling, collecting, and continuous measurement of small-molecular-weight substances in the extracellular fluid of virtually any tissue. Widely established in pharmacology and neuroscience, it permits evaluation of the metabolism in any organ including brain and allows early detection of the cell stress. Concentrations of the target analytes in the dialysate are determined by the type of the analysed tissue, paracrine interactions, and technical features such as membrane type and surface area or flow rate of isotonic fluid. Cerebral (or brain) microdialysis can be used

in personalised pharmacotherapy and prognostication in patients with neurological disorders. Here we discuss recent advances in brain microdialysis and focus on critical parameters defining its efficiency.

**Keywords:** brain microdialysis, neuroscience, neurodegenerative diseases, neurobiology, neurochemistry.

**Conflict of Interest**

None declared.

**Funding**

This work was supported by a Grant of the President of the Russian Federation for State Support of Leading Research Schools of the Russian Federation (RS-2547.2020.7).

**For citation:**

Ekaterina V. Kharitonova, Olga L. Lopatina, Sergey A. Marchenko, Yana V. Gorina, Alla B. Salmina. Brain microdialysis in neurobiology and neurochemistry. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2020; 5(3):85-97. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-3-85-97>

**\*\*Corresponding author:**

Ekaterina V. Kharitonova, 1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, Russian Federation, 660022, e-mail: [ekaterinav1201@gmail.com](mailto:ekaterinav1201@gmail.com)

© Ekaterina V. Kharitonova et al.

## Введение

Микродиализ – один из современных методов получения биологической жидкости (внеклеточная жидкость) из ткани в процессе функционирования организма с последующим анализом компонентного состава жидкости. Принципиальной основой метода является проникновение аналита путём простой диффузии в перфузируемую жидкость (перфузат, изотоническая жидкость) с формированием анализируемой смеси – диализата [1].

Впервые эта техника была разработана в конце 1950-х годов и использована для изучения концентрации нейротрансмиттеров в ткани головного мозга у крыс [2,3]. Позднее этот метод был переработан и усовершенствован для исследования эндогенных и экзогенных соединений во внеклеточной жидкости различных тканей. Метод микродиализа не ограничивается исследованиями *in vivo*, он также использу-

ется для отбора проб в исследованиях *in vitro* [4].

Особую актуальность приобрел этот метод исследования в экспериментальной нейробиологии, нейрохимии, а также клинической медицине, например, нейрохирургии. Помимо того, что этот метод популярен для оценки уровня нейротрансмиттеров и метаболитов, в том числе, например, бета-амилоида при хронической нейродегенерации [5], в экспериментальной нейрохимии этот метод пригоден для оценки субклеточного метаболома, например, продукции лактата и пирувата в реакциях гликолиза, а также генерации промежуточных метаболитов цикла трикарбоновых кислот, что совокупно отражает энергетическую функцию митохондрий и является чувствительным способом оценки (гипо)метаболизма головного мозга. В клинической практике наибольшее распространение получил анализ спинномозго-

вой жидкости, полученной методом микродиализа головного мозга, позволяющий оценивать продукцию лактата, утилизацию глюкозы [6], продукцию цитокинов [7], аккумуляцию бета-амилоида [8].

Кроме сбора анализата, этот метод применяют как средство доставки вещества в обозначенную зону [9, 10, 11] и используют для изучения распределения лекарственного средства в тканях *in vivo*, концентрации на целевом участке, что дает возможность сопоставления содержания лекарственного препарата и фармакологических эффектов. Микродиализ позволяет повысить эффективность фармакокинетических измерений, полагаясь на дискретные образцы биологической жидкости.

Стоит отметить, что микродиализ сочетается с высокочувствительными аналитическими методами, которые позволяют количественно определять низкие концентрации в образцах малого размера [12]. Для точной идентификации соединений из современных обычно используют высокоэффективную жидкостную хроматографию, иммуоферментный анализ [13], электрофорез на микрочипах [14, 15], измерение активности ферментов [16], различные электрохимические методы [17], а также метод масс-спектрометрии прямого введения [18].

В целом микродиализ является высокочувствительным методом [9], отличается разнообразием микродиализных канюлей и множеством других возможных модификаций процесса [13, 19], в том числе в контексте использования поведенческих реакций в качестве стимулов к выработке гормонов и других потенциальных анализатов, с целью выявления зависимости картины метаболизма от экзогенных факторов при проведении экспериментов в области нейробиологии поведения [20].

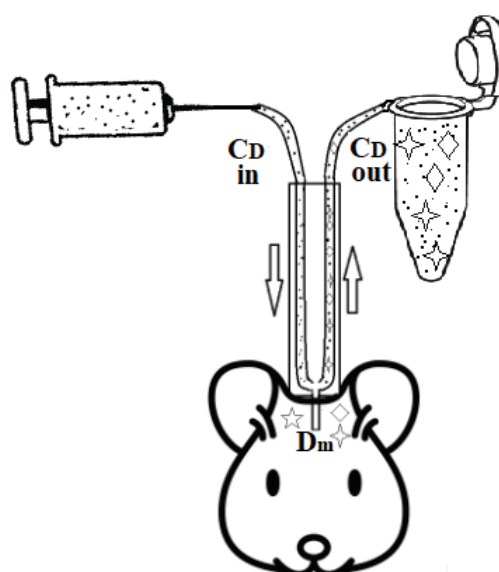


Рисунок 1.

Принцип работы метода микродиализа. С – концентрация анализата (in – входящего, out – исходящего); D – коэффициент диффузии (m – через мембрану).

Figure 1.

General principle of the microdialysis technique. CD in (inlet) – analyte concentration in the perfusate, CD out (outlet) – analyte concentration in the dialysate, Dm – membrane diffusion coefficient.

В основе метода лежит принцип простой диффузии – молекулы диффундируют из интересующего объекта в непрерывно текущую изотоническую жидкость через полупроницаемую мембрану направляющей канюли (рисунки 1) [21–23].

Типичная установка для системы микродиализа включает в себя шприцевой и перистальтический насосы, регулирующие постоянную скорость подачи и забора изотонической жидкости и диализата соответственно, прозрачный бокс для нахождения животного и наблюдения за ним, направляющую канюлю (зонд) для микродиализа, фракционный коллектор с системой охлаждения и соединительные трубки (капилляры) (рисунки 2) [9].

Одним из наиболее важных компонентов микродиализа является микродиализный зонд [11, 24]. Смысл применения направляющей канюли заключается в том, чтобы имитировать кровеносный сосуд (капилляр) [25]. На конце зонда

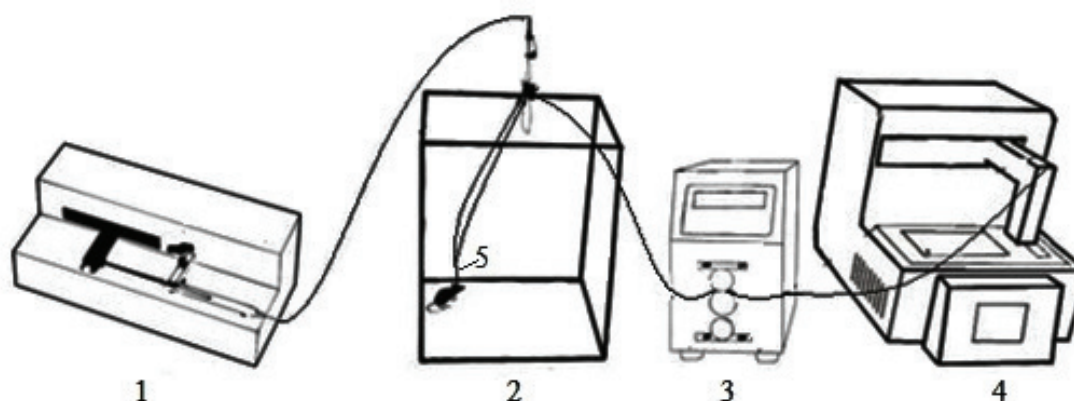


Рисунок 2.

Типичная установка для микродиализа. 1 – шприцевой насос; 2 – прозрачный бокс для экспериментального животного; 3 – перистальтический насос; 4 – коллектор с системой охлаждения; 5 – направляющая канюля (микродиализный зонд).

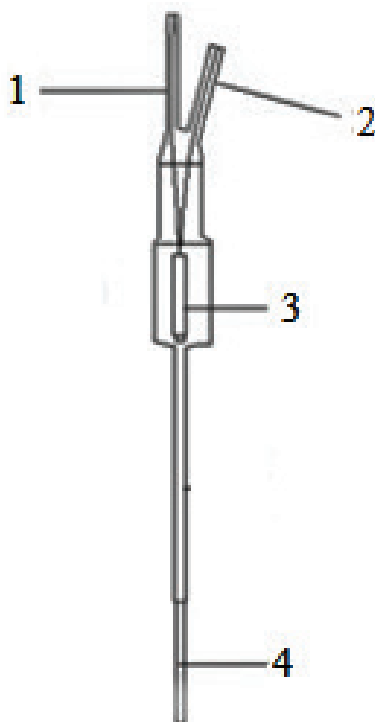
Figure 2.

Typical microdialysis setup. 1 – syringe pump; 2 – transparent box for an experimental animal; 3 – peristaltic pump; 4 – cooling collector; 5 – guide cannula (microdialysis probe).

находится полунепроницаемая мембрана, которая является ее основным «рабочим» элементом (**рисунок 3**). При достижении изотонической жидкости мембранного участка зонда происходит пассивный транспорт веществ из межклеточной жидкости в полость катетера по градиенту концентрации. Таким образом фактически достигается воспроизведение механизма диффузии внеклеточной жидкости в просвет микрососуда, но, разумеется, не учитываются возможные механизмы транспорта, существующие в естественных условиях, порозность мембраны и изменения ее структурной целостности под действием (пато)физиологических факторов.

**Рисунок 3.**

Схематичное изображение универсального зонда для микродиализа. 1 – капилляр на «вход» для перфузата; 2 – капилляр на «выход» для диализата; 3 – посредник; 4 – полунепроницаемая мембрана.



**Figure 3.**

Schematic representation of a microdialysis probe. 1 – inlet capillary for the perfusate; 2 – outlet capillary for the dialysate; 3 – adapter; 4 – semi-impermeable membrane.

В целом надо учитывать, что имитация проницаемости микрососуда головного мозга применением микродиализной мембраной до сих пор не может быть достигнута. Это, прежде всего, связано с тем, что гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) является высокоселективным полупроницаемым физиологическим барьером, обеспечивающий постоянную и оптимальную химическую среду в паренхиме головного мозга, тем самым играя важную роль в поддержании гомеостаза в ткани [26]. Особую значимость механизмы обеспечения структурно-функциональной целостности ГЭБ приобретают при хронической нейродегенерации, нейровоспалении, острой ишемии и реализа-

ции феномена эксайтотоксичности [27-29].

Однако ограниченность знаний о механизмах регуляции проницаемости ГЭБ в норме и при патологии и недоступность материалов, воспроизводящих параметры проницаемости барьера, в том числе измененные при патологии головного мозга, ограничивают возможности по применению технологии микродиализа для решения вопросов управления проницаемостью ГЭБ, причем это ограничение справедливо и при применении микродиализного подхода в реконструируемых моделях ГЭБ *in vitro* [30].

Направляющая канюля способна пропускать соединения определённой молекулярной массы и в соответствующих концентрациях в ее внутреннее пространство. Способность к пропусканию веществ определяется специальной величиной MWCO (molecular weight cut-off, «граница отсева задерживаемых компонентов по молекулярному весу»), которая обозначает молекулярную массу условного вещества, при которой 90% его массы задерживается мембраной [9, 10]. Чаще всего коммерчески доступные мембраны имеют MWCO порядка 20-100 кДа, однако бывают мембраны и большего значения этих величин [9].

На проницаемость и «собирающую способность» мембраны в отношении целевого компонента влияют различные особенности: ее поверхностная энергия, полярность, заряд и структурные характеристики. Последние должны повторять особенности материала имплантата, клеточных стенок, поверхностей биосенсоров или фильтрационных мембран. Материалы подбираются также с учётом веществ, которые будут проходить сквозь отверстие. Belfort и др. установили, что неполярные поверхности дестабилизируют белки и таким образом вызывают конформационные изменения, приводящие к тесным взаимодействиям внутренних и наружных частей белковой молекулы [31].

Главной особенностью метода микродиализа является способность к сбору анализов при контроле лишь скорости потока. Для предотвращения эффекта ультрафильтрации (процесса переноса анализов через мембрану с использованием изменения давления в системе, наличие которого можно определить по «запотеванию» зонда) в отдельных случаях акцентируют внимание на давлении, которое может быть разным на внутренней и внешней границах мембраны [13].

Если представить микродиализ в виде некоторой последовательности действий, то его условно можно разделить на два этапа: операцию по установке канюли и собственно сбор диализата.

Установка канюли производится с помощью стереотаксического аппарата, который представляет собой прибор с направляющим штативом, способным быть сориентированным в соответствии с принятой системой координат. При этом в череп имплантируется направляющая канюля, которая обеспечивает доступ перфузата в заданную область. Стоит отметить, что происходит нарушение функционирования целевого отдела, сопровождающееся разрушением капилляров, сосудов, образованием ишемического очага [32] либо очага локального нейровоспаления, вследствие чего наблюдается дисбаланс концентраций различных метаболитов, искажается состав внеклеточной жидкости (в нем появляются продукты разрушенных клеток, провоспалительные цитокины, продукты окислительного повреждения белков и липидов). Вследствие вышеперечисленных причин необходимы поправки к концентрациям метаболитов из нарушенной области, что обычно достигается применением достаточного периода времени после установки канюли для редуцирования процессов воспаления и ишемии.

Однако нарушения физиологических параметров являются не единственной причиной применения поправок к исследуемому образцу диализата. С течением времени через мембрану проходит определённое количество вещества, что является причиной истощения концентрации метаболита в окружающей ткани [10]. Если время наблюдения достаточно велико, то это может привести к ложным заключениям о динамике секреции тех или иных нейротрансмиттеров или нейропептидов. Следует принимать во внимание и скорость потока, площадь мембраны, через которую происходит диффузия, эффективную проницаемость мембраны. Одним из основных параметров является безразмерная величина эффективности восстановления аналита – «относительное восстановление». Данный термин отражает эффективность забора аналита из межклеточного вещества, которая уменьшается при возрастании скорости потока и сопротивления внутри мембраны.

Во время процесса микродиализа вещества перемещаются через три среды, каждая

из которых имеет различный состав: перфузат, мембрану и межклеточную среду (ткань). Факторы, которые определяют диффузию, будут изменяться в каждой среде и, соответственно, уровни концентрации целевого компонента будут отличаться тоже. Следовательно, диффузионные характеристики вещества в каждой среде должны рассматриваться отдельно.

Изменения в межклеточной концентрации аналита ( $E_d$ ) могут проявляться как увеличение или уменьшение концентрации диализата в анализе. Следовательно, изменения концентрации диализата не обязательно означают, что внеклеточная концентрация изменилась. Снижение эффективности восстановления может означать снижение относительного восстановления или увеличение радиального расстояния между ненарушенной тканью и зондом, а его увеличение может означать увеличение относительного восстановления или уменьшение радиального расстояния между ненарушенной тканью и зондом. В большинстве обычных вариантов интерпретации результатов микродиализа основное предположение заключается в том, что  $E_d$  остаётся неизменным в течение сбора диализата, поэтому любое изменение концентрации диализата интерпретируется как изменение внеклеточной концентрации [33].

Существует также понятие «эффективной проницаемости». Его физический смысл состоит в способности проникновении целевого компонента через мембрану из внешней среды, без учёта вещества аналита, потерянного для диализата в силу различных причин (выход аналита обратно во внешнюю среду, его адгезия к веществу мембраны и т.д.) [34].

Эффективная проницаемость мембраны выводится из понятия «чистоты диализа» (т. е. его «продуктивности») ( $CL_D$ ), которая равна произведению относительного восстановления и скорости потока. Для получения «чистого» диализата необходимо выполнение следующих требований: мембрана цилиндрическая полупроницаемая и состоит из гомогенного материала; скорость потока микродиализа неизменна с течением времени; отсутствуют конвекционные потоки внутри системы «зонд-окружающие ткани»; существует как приток аналита внутрь канюли, так и его отток.

Кроме того, следует знать, каким образом осуществляется калибровка системы для на-



хождения оптимальной скорости потока с приемлемым коэффициентом восстановления.

Если представить себе общий смысл проводимых манипуляций, то все они сводятся к измерению концентрации восстановленного аналита при определённой(-ых) скорости(-ях) потока.

Одним из способов является метод медленного (нулевого) потока [9]: при нём производится забор диализата при «ультранизких» скоростях потока порядка 0,1-0,3 мкл/мин. При столь низкой интенсивности тока жидкости коэффициент восстановления стремится к 100%. Метод нулевого потока сводится к нахождению точки отсутствия изменения концентрации аналита, которая находится по обнаружению её изменения между диализатом и перфузатом. При этом строится график зависимости между концентрациями аналита в межклеточной жидкости и разницей его концентраций в диализате и перфузате. Соответственно упомянутая точка отражает концентрацию вещества в исследуемой среде. Следует, однако, иметь в виду, что данный метод нежелательно использовать для исследований *in vivo* из-за изменения в концентрации целевого соединения в окружающем пространстве.

Динамический метод нулевого потока предполагает, в отличие от описанного выше, использование группы животных для калибровки, которые формируются в зависимости от используемой концентрации аналита. В этом случае строится график зависимости концентрации от прошедшего времени. Этот метод пригоден для оценки влияния введённых в орган соединений на уровень других веществ.

Микродиализ по праву называют доминирующим методом для изучения центральной нервной системы *in vivo*. Универсальность микродиализа позволяет использовать его для изучения клеточно-молекулярных механизмов, лежащих в основе патогенеза многих неврологических заболеваний, эффектов лекарств, внешних факторов, а также реализации сложных форм поведения и когниции [35].

Мониторинг метаболизма головного мозга с помощью внутримозгового микродиализа дает возможность предсказывать вторичные повреждения и может сопутствовать принятию решений относительно вмешательств, влияющих на исход заболеваний. Тем не менее, внутримозговой микродиализ является локальной методикой измерения, которая зависит от уста-

новки зонда вблизи очага поражения. Непрерывное использование этой методики предоставляет информацию об общем метаболизме мозга.

В последние два десятилетия появились многочисленные примеры эффективного использования метода микродиализа головного мозга при изучении функционирования головного мозга в норме и при экспериментальной патологии центральной нервной системы. Например, результаты микродиализа свидетельствуют об уменьшении концентрации свободного фенитоина – противоэпилептического препарата в мозге крыс при дисфункции ГЭБ [36, 37]. Крысам линии Wistar с искусственно вызванной моделью аутизма имплантировали микродиализную канюлю в головной мозг для исследования концентраций нейротрансмиттерных аминокислот (глутамата, глутамина и  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК) и дальнейшим анализом с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [38].

Heidrun Potschka и др. изучали ингибирующее влияние верапамила на концентрацию Р-гликопротеина – одного из транспортеров для фенобарбитала, ламотриджина и фельбамата в головной мозг, сверхэкспрессия которого значительно снижает их биодоступность. Перфузию верапамила в кору головного мозга крысам осуществляли с использованием микродиализного зонда. В собранной межклеточной жидкости отмечалось увеличение противоэпилептических лекарственных средств, что подтверждает ингибирующий эффект верапамила на Р-гликопротеина, тем самым повышает биодоступность данной группы препаратов в мозге [39].

Для изучения количественной информации о доставке метотрексата и его липосомальных композиций в мозг в исследовании [40] применяли микродиализ. Для создания жирорастворимых форм использовали два вида фосфолипидов: 1 – гидрогенизированный соевый фосфатидилхолин (hydrogenated soy phosphatidylcholine, HSPC) и 2 – фосфатидилхолин яичный желток (egg-yolk phosphatidylcholine, EYPC). Самцам крыс устанавливали направляющую канюлю в стриатум, после чего помещали в специальный бокс, где животное могло свободно перемещаться. Эксперимент проводили через 24 часа после операции. Скорость подачи перфузата равнялась 0,5 мкл/мин. Собранная меж-

клеточная жидкость анализировалась путем применения ВЭЖХ с tandemной масс-спектрометрией. Физико-химический анализ продемонстрировал, что концентрация композиции метотрексата-EYPC была выше в 3 раза в межклеточной жидкости мозга, в то время как метотрексат-HSPC не показал статистически достоверного повышения биодоступности относительно введения самого метотрексата.

Применение микродиализа *in vivo* в эксперименте на мышах предоставило возможность доказать участие аквапоринов-4 (AQP4) – белка, образующего водопроводящие каналы в клетках периваскулярной астроглии, в регуляции высвобождения нейромедиаторов. Были изучены изменения в выбросах нейротрансмиттеров в стандартных условиях и после стимуляции высокими концентрациями K(+) полосатого тела мышей дикого типа и AQP4-нокаутированных животных. Через 24 часа после деполяризующего стимула секреция нейротрансмиттеров не изменялась и была аналогичной у всех животных, за исключением таурина. Тем не менее, внеклеточная концентрация дофамина и его метаболитов были значительно увеличены у нокаутированных грызунов с последующим снижением или отсутствием реакции на деполяризующие раздражители при измерении через 7 дней после операции [41].

Для выявления влияния локальной инсулинорезистентности в ткани головного мозга на динамику отложения  $\beta$ -амилоида (A $\beta$ ) при болезни Альцгеймера Wakabayashi T. и соавт. стереотаксически имплантировали направляющую канюлю с мембраной (30 кДа MWCO) в левый гиппокамп мышей. Образцы собирали каждый час, после чего были анализированы с использованием иммуноферментного анализа (ИФА) [42].

Используя метод микродиализа *in vivo*, авторы работы [43] установили, что именно липопротеин ApoE4 у мышей увеличивает период полувыведения A $\beta$  в мозге при нейродегенерации альцгеймеровского типа.

Уровни нейротрансмиттеров (дофамина, серотонина, норадреналина, гомованиловой кислоты и норметанефрина) и их метаболитов были изучены *in vivo* в диализатах, полученных от крыс с кетаминовой моделью шизофрении. Образцы собирали у свободно движущихся животных с имплантированными канюлями в область стриатума (полосатое тело)

мозга. Биологический материал немедленно замораживали на сухом льду (-70° C) до момента востребования. Количественное определение проводили с помощью ВЭЖХ с электрохимическим детектированием [44].

Для изучения роли и влияния инотропных глутаматных рецепторов (AMPA-R), на уровни  $\beta$ -амилоидов, которые непосредственно влияют на возникновение болезни Альцгеймера, авторы исследования [45] использовали микродиализ *in vivo* на мышинной модели APP/PS1. Направляющую канюлю имплантировали стереотаксически в левый гиппокамп и закрепили с помощью зубного цемента. Капилляры и зонды перфузировали искусственной спинномозговой жидкостью, содержащей 0,15% бычьего сывороточного альбумина (скорость 0,5 мкл/мин). Nettinger J.C. с соавторами, используя шприцевой насос, вводили  $\alpha$ -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовую кислоту (AMPA) и одновременно собирали интерстициальную жидкость для анализа A $\beta$  с помощью перистальтического насоса. В конце эксперимента все образцы межклеточной жидкости анализировали на уровни A $\beta$ x-40 или A $\beta$ x-42 с помощью ИФА.

Авторы работы [46] разработали автоматизированный метод онлайн-сбора и количественного определения нейропептидов в микродиализатах мозга крыс. Межклеточная жидкость, собранная из гиппокампа, была изучена количественно использованием tandemной масс-спектрометрии и капиллярной жидкостной хроматографии (cLC-MS). Количественное определение концентраций нейропептидов лей-энкефалина и мет-энкефалина в диализате гиппокампа крыс анализировали с использованием деметилирования их на колонке.

Установлено, что сочетание методов микродиализа и ВЭЖХ в тандеме с масс-спектрометрией позволяет проводить одновременный и непрерывный количественный анализ нейроактивных веществ в биологической жидкости гиппокампа и плазме, изучая при этом терапевтический эффект активного целевого соединения на бодрствующих ишемизированных крысах [47].

Тканевая инженерия и регенеративная медицина для исследования и восстановления нервной системы предоставляют новые перспективные направления, прогресс в которых обусловлен новыми технологическими

возможностями в создании микрофизиологических систем в формате brain-on-chip или blood-brain barrier-on-chip [48, 49].

Не менее интересные возможности открывает применение подхода, сочетающего сбор образца с помощью метода микродиализа головного мозга и определение концентрации веществ в микрочипах, ассоциированных с зондом, например, для автоматического мониторинга концентрации серотонина и малонового диальдегида в разных регионах головного мозга [50] или для регистрации концентрации глутамата в активных зонах головного мозга [51]. Samper и др. изготовили 3D-печатную микрожидкостную биосенсорную платформу для записи on-line нейрохимических изменений в мозге человека. Система базировалась на методе микродиализа – для сбора и обнаружения нейротрансмиттеров и других молекул в межклеточной жидкости ткани, и электрохимических биосенсоров – для контроля различных биомаркеров. Используя это микрофлюидное устройство совместно с методом микродиализа, можно было обнаружить изменения концентрации переходного метаболита, а также динамическое изменение целевых компонентов в мозге живого человека в режиме реального времени впервые [52].

Другое направление совершенствования метода микродиализа головного мозга основано на разработке миниатюрных зондов, как это было сделано в работе [53]: зонд 140 на 140 микрометров позволяет обеспечивать сбор перфузата по 20 3-микрометровым каналам, что обеспечивает площадь диффузии 1200 квадратных микрометров.

Еще одно перспективное направления в развитии метода микродиализа головного мозга связано с его применением для оценки функционирования субклеточных органелл. Так, например, оценка уровней лактата и пирувата позволила исследователям [54] оценить развитие митохондриальной дисфункции в клетках головного мозга голубей при химической гипоксии. Изучение особенностей реализации реакций цикла трикарбоновых кислот в клетках головного мозга, а также влияния различных нейротрансмиттеров на энергетическую функцию митохондрий достижимо в эксперименте с применением метода микродиализа [19]. Не менее интересным является исследование функциональной активности митохондрий клеток головного мозга эксперимен-

тальных животных с применением метода микродиализа и  $^{13}\text{C}$ -меченых метаболитов цикла трикарбоновых кислот, в том числе на фоне церебральной ишемии, индуцированной эндотелином-1 [55]. В клинической практике определение отношения уровней лактата и пирувата во внеклеточной жидкости головного мозга позволяет оценить повреждение митохондрий [56, 57].

Универсальный характер метода микродиализа позволяет широко использовать этот протокол в биомедицинских и клинических исследованиях. Тем не менее, чтобы использовать преимущества микродиализа, необходимо в полной мере учесть немалое количество параметров для минимизации ошибок и предотвращения погрешностей. Метод микродиализа в медицинской практике может быть совмещен с различными приспособлениями для детектирования того или иного типа нейротрансмиттеров. Однако предпочтение отдается tandem-ной масс-спектрометрии (МС/МС), которая часто используется для анализа. В этом методе задается «интересующий» целевой компонент для анализа, который фрагментируется масс-спектрометром, что в итоге приводит к увеличению селективности, количественной оценке и чувствительности по сравнению с одностадийными измерениями МС [35].

Повреждения, происходящие на клеточном и молекулярном уровнях, уклоняются от обнаружения с помощью обычного гемодинамического мониторинга и неврологического обследования. Церебральный микродиализ является инвазивным средством обеспечения почти непрерывного измерения метаболизма любого отдела головного мозга (**таблица 1**) и перспективным инструментом, который может обнаружить признаки клеточной патологии до системных проявлений заболевания [36].

Этот метод развивался с разработкой высокочувствительных аналитических методов, позволяющих количественно определять низкие концентрации в образцах малого размера. Потенциальная и ценная роль этого метода может заключаться в использовании метода в качестве локального устройства для отбора проб в метаболомике. Тем не менее, выбор подходящего метода должен быть тщательно продуман, поскольку чувствительность и специфичность имеют решающее значение при измерении этих медиаторов в образцах микродиализа с ограниченным объемом [12].



№	Объект исследования <i>Animal model</i>	Особенности микродиализа (технологические) <i>Microdialysis parameters</i>	Исследуемый регион головного мозга <i>Region of interest</i>	Вид патологии <i>Neurological disorder</i>	Регистрируемые данные <i>Analytes</i>	Источник информации <i>Reference</i>
1	Мыши (самцы) и AQP4-нокаутированные мыши <i>Male mice and AQP4-knockout mice</i>	Скорость подачи перфузата 2 мкл/мин; Образцы собирали каждые 20 мин, в течении 2 ч <i>Perfusate flow rate 2 µL/min</i> <i>Sample collection every 20 min for 2 h</i>	Стриатум <i>Striatum</i>	–	Аминокислоты (аспартат, глутамат, таурин и др.) Моноамины (допамин, 3,4-дигидроксифенилуксусная кислота и др.) <i>Amino acids (aspartate, glutamate, taurine etc.)</i> <i>Monoamines (dopamine, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, etc.)</i>	<a href="https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304394007007100?via%3Dihub">https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304394007007100?via%3Dihub</a>
2	Трансгенные мыши A7 (A7-Tg) <i>Transgenic mice A7 (A7-Tg)</i>	Скорость подачи перфузата 1 мкл/мин Образцы собирали каждые 60 мин после 24-часового перфузирования искусственной спинномозговой жидкостью <i>Perfusate flow rate 1 µL/min. Sample collection every 60 min after 24 hour-perfusion with artificial cerebrospinal fluid</i>	Левый гиппокамп <i>Left hippocampus</i>	Болезнь Альцгеймера <i>Alzheimer's disease</i>	Aβ	<a href="https://molecularneurodegeneration.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13024-019-0315-7">https://molecularneurodegeneration.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13024-019-0315-7</a>
3	Мыши <i>Mice</i>	Скорость подачи перфузата 0,5 мкл/мин Образцы собирали каждые 3 часа/ <i>Perfusate flow rate 0.5 µL/min</i> <i>Sample collection every 3 hours</i>	Левый гиппокамп <i>Left hippocampus</i>	Болезнь Альцгеймера <i>Alzheimer's disease</i>	Aβ <sub>1-40</sub> Aβ <sub>1-42</sub> /	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5952376/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5952376/</a>
	Гемизиготные мыши APPswe/PS1ΔE9 (APP/PS1) APPswe / PS1ΔE9 (APP / PS1) hemizygous mice	Скорость подачи перфузата 1 мкл/мин Образцы собирали каждые 90 мин/ <i>Perfusate flow rate 1 µL/min</i> <i>Sample collection every 90 min</i>				
	Мыши IL-6 <sup>-/-</sup> IL-6 <sup>-/-</sup> mice	Скорость подачи перфузата 1 мкл/мин Образцы собирали каждые 2,5 часа <i>Perfusate flow rate 1 µL/min</i> <i>Sample collection every 2.5 hours</i>				
4	Крысы <i>Rats</i>	Скорость подачи перфузата 2 мкл/мин; Объем пробы 60 мкл (2 шт) Время на анализ 60 мин/ <i>Perfusate flow rate 2 µL/min</i> <i>Sample volume 60 µL (2 pcs)</i> <i>Analysis time 60 min</i>	Миндалевидное тело <i>Amygdala</i>	Дисфункция ГЭБ, Эпилептические припадки <i>Blood-brain barrier dysfunction, epileptic seizures</i>	Проникновение фенитоина во внеклеточную жидкость головного мозга <i>Penetration of phenytoin into the brain extracellular fluid</i>	<a href="https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028390811002620?via%3Dihub">https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028390811002620?via%3Dihub</a>
5	Крысы (самцы) <i>Male rats</i>	Скорость подачи перфузата 0,5 мкл/мин; Объем пробы 15 мкл Время на анализ 30 мин/ <i>Perfusate flow rate 0.5 µL/min</i> <i>Sample volume 15 µL</i> <i>Analysis time 30 min</i>	Стриатум <i>Striatum</i>	–	Концентрация метотрексата в межклеточной жидкости <i>Concentration of methotrexate in the intercellular fluid</i>	<a href="https://jpharmsci.org/article/S0022-3549(17)30166-1/fulltext">https://jpharmsci.org/article/S0022-3549(17)30166-1/fulltext</a>

Таблица 1.

Сводные данные некоторых экспериментальных исследований по изучению метаболизма головного мозга на грызунах методом микродиализа

Table 1.

Summary of the experimental studies on brain metabolism in rodents by microdialysis

6	Крысы Wistar (самцы) Male Wistar rats	Скорость потока 1 мкл/мин Образцы собирали после 60-ти минутного перфузирования искусственной спинномозговой жидкостью/ Perfusate flow rate 1 $\mu$ L/min Sample collection after 60 minutes of perfusion with artificial cerebrospinal fluid	Скорлупа Putamen	–	Фармакокинетика ремоксиприда/ Pharmacokinetics of Remoxipride	<a href="https://link.springer.com/article/10.1008%2Fs12248-016-0002-3">https://link.springer.com/article/10.1008%2Fs12248-016-0002-3</a>
7	Крысы Wistar (самки) Female Wistar rats	Скорость подачи перфузата 2 мкл/мин; Объем пробы 40 мкл (2 шт) Время на анализ 60 мин/ Perfusate flow rate 2 $\mu$ L/min; Sample volume 40 $\mu$ L (2 pcs) Analysis time 60 min	Моторная кора Motor cortex	Эпилептические припадки Epileptic seizures	Влияние верапамила на концентрацию Р-гликопротеина/ The effect of verapamil on the concentration of P-glycoprotein	<a href="https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304394002004238?via=ihub">https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304394002004238?via=ihub</a>
8	Крысы Wistar (обоих полов) Male and female Wistar rats	Скорость подачи перфузата 2 мкл/мин Объем пробы 80 мкл Образцы собирали через 30 мин после имплантации направляющей канюли каждые 40 мин в течение 4 часов Perfusate flow rate 2 $\mu$ L/min Sample volume 80 $\mu$ L Sample collection 30 minutes after implantation of the guide cannula every 40 minutes for 4 hours.	Правый гиппокамп Right hippocampus	Аутизм Autism	Глутамат, глутамин, ГАМК/ Glutamate, glutamine, GABA	<a href="https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnmol.2018.00418/full">https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnmol.2018.00418/full</a>
9	Крысы Sprague-Dawley (самцы) Male Sprague-Dawley rats	Скорость подачи перфузата 1,5 мкл/мин; Объем пробы 30 мкл Образцы собирали каждые 20 мин, после 3-часового перфузирования искусственной спинномозговой жидкостью Perfusate flow rate 1.5 $\mu$ L/min Sample volume 30 $\mu$ L Sample collection every 20 min after 3-hour perfusion with artificial cerebrospinal fluid.	Стриатум Striatum	Кетамин-модель Шизофрении Ketamine model of schizophrenia	Концентрации допамина, серотонина, норадреналина и уровни их метаболитов/ Concentrations of dopamine, serotonin, noradrenaline and levels of their metabolites	<a href="https://link.springer.com/article/10.1007/s00213-020-05484-1">https://link.springer.com/article/10.1007/s00213-020-05484-1</a>
10	Крысы Sprague-Dawley (самцы) Male Sprague-Dawley rats	Скорость подачи перфузата 0,5 мкл/мин Образцы собирали через 30 мин после имплантации направляющей канюли Perfusate flow rate 0.5 $\mu$ L/min Sample collection 30 minutes after implantation of the guide cannula	Гиппокамп Hippocampus	–	Лей-энкефалин Met-энкефалин/ Leu-enkephalin Met-enkephalin	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6236683/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6236683/</a>

## Литература / References:

- Baumann KY, Church MK, Clough GF, Quist SR, Schmelz M, Skov PS, Anderson CD, Tannert LK, Giménez-Arnau AM, Frischbutter S, Scheffel J, Maurer M. Skin microdialysis: methods, applications and future opportunities an EAACI position paper. *Clin Transl Allergy*. 2019;9:24. <https://doi.org/10.1186/s13601-019-0262-y>
- KALANT H. A microdialysis procedure for extraction and isolation of corticosteroids from peripheral blood plasma. *Biochem J*. 1958;69(1):99-103. <https://doi.org/10.1042/bj0690099>
- Bito L, Davson H, Levin E, Murray M, Snider N. The concentrations of free amino acids and other electrolytes in cerebrospinal fluid, in vivo dialysate of brain, and blood plasma of the dog. *J Neurochem*. 1966;13(11):1057-1067. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1966.tb04265.x>
- Wang X, Stenken JA. Microdialysis sampling membrane performance during in vitro macromolecule collection. *Anal Chem*. 2006;78(17):6026-6034. <https://doi.org/10.1021/ac0602930>
- Cirrito JR, May PC, O'Dell MA, Taylor JW, Parsadanian M, Cramer JW, Audia JE, Nissen JS, Bales KR, Paul SM, DeMattos RB, Holtzman DM. In vivo assessment of brain interstitial fluid with microdialysis reveals plaque-associated changes in amyloid-beta metabolism and half-life. *J Neurosci*. 2003;23(26):8844-8853. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-26-08844.2003>
- Thelin EP, Nelson DW, Ghatan PH, Bellander BM. Microdialysis Monitoring of CSF Parameters in Severe Traumatic Brain Injury Patients: A Novel Approach. *Front Neurol*. 2014;5:159. <https://doi.org/10.3389/fneur.2014.00159>
- Zeiler FA, Thelin EP, Czosnyka M, Hutchinson PJ, Menon DK, Helmy A. Cerebrospinal Fluid and Microdialysis Cytokines in Severe Traumatic Brain Injury: A Scoping Systematic Review. *Front Neurol*. 2017;8:331. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00331>
- Tsitsopoulos PP, Marklund N. Amyloid- $\beta$  peptides and tau protein as biomarkers in cerebrospinal and interstitial fluid following traumatic brain injury: a review of experimental and clinical studies. *Front Neurol*. 2013;4:79. <https://doi.org/10.3389/fneur.2013.00079>
- Kho CM, Enche Ab Rahim SK, Ahmad ZA, Abdullah NS. A Review on Microdialysis Calibration Methods: the Theory and Current Related Efforts. *Mol Neurobiol*. 2017;54(5):3506-3527. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9929-8>
- Chefer VI, Thompson AC, Zapata A, Shippenberg TS. Overview of Brain Microdialysis. *Curr Protoc Neurosci*. 2009;Chapter 7:Unit 7.1. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0701s47>
- Lee MKK, Di L. Crosstalk the Microdialysis in Scientific Research: from Principle to its Applications. *Pharm Anal Acta*. 2013;5(1):276-296. <https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000276>
- van den Brink WJ, Wong YC, Gulave B, van der Graaf PH, de Lange EC. Revealing the neuroendocrine response after remoxipride treatment using multi-biomarker discovery and quantifying it by PK/PD modeling. *AAPS J*. 2017;19(1):274-285. <https://doi.org/10.1208/s12248-016-0002-3>
- Hillered L, Dahlin AP, Clausen F, Chu J, Bergquist J, Hjort K, Enblad P, Lewén A. Cerebral microdialysis for protein biomarker monitoring in the neurointensive care setting - a technical approach. *Front Neurol*. 2014;5:245. <https://doi.org/10.3389/fneur.2014.00245>
- Wang M, Roman GT, Perry ML, Kennedy RT. Microfluidic chip for high efficiency electrophoretic analysis of segmented flow from a microdialysis probe and in vivo chemical monitoring. *Anal Chem*. 2009;81(21):9072-9078. <https://doi.org/10.1021/ac901731v>
- Wang M, Slaney T, Mabrouk O, Kennedy RT. Collection of nanoliter microdialysate fractions in plugs for off-line in vivo chemical monitoring with up to 2s temporal resolution. *J Neurosci Methods*. 2010;190(1):39-48. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2010.04.023>
- Slaney TR, Nie J, Hershey ND, Linderman J, Burns MA, Kennedy RT. Push-pull perfusion sampling with segmented flow for high temporal and spatial resolution in vivo chemical monitoring. *Anal Chem*. 2011;83(13):5207-5213. <https://doi.org/10.1021/ac2003938>
- Rogers M, Leong C, Niu X, de Mello A, Parker KH, Bouteille MG. Optimisation of a microfluidic analysis chamber for the placement of microelectrodes. *Phys Chem Chem Phys*. 2011;13(12):5298-5303. <https://doi.org/10.1039/c0cp02810j>
- Song P, Hershey ND, Mabrouk OS, Slaney TR, Kennedy RT. Mass spectrometry "sensor" for in vivo acetylcholine monitoring. *Anal Chem*. 2012;84(11):4659-4664. <https://doi.org/10.1021/ac301203m>
- Kao C-Y, Anderzhanova E, Asara JM, Wotjak CT, Turck CW. NextGen Brain Microdialysis: Applying Modern Metabolomics Technology to the Analysis of Extracellular Fluid in the Central Nervous System. *Mol Neuropsychiatry*. 2015;1(1):60-67. <https://doi.org/10.1159/000381855>
- Lukas M, Neumann ID. Oxytocin and vasopressin in rodent behaviors related to social dysfunctions in autism spectrum disorders. *Behav Brain Res*. 2013;251:85-94. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.08.011>
- Bouw MR, Gardmark M, Hammarlund-Udenaes M. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of morphine transport across the blood-brain barrier as a cause of the antinociceptive effect delay in rats--a microdialysis study. *Pharm Res*. 2000;17(10):1220-1227. <https://doi.org/10.1023/a:1026414713509>
- Bostrom E, Hammarlund-Udenaes M, Simonsson US. Blood-brain barrier transport helps to explain discrepancies in in vivo potency between oxycodone and morphine barrier transport helps to explain discrepancies in in vivo potency between oxycodone and morphine. *Anesthesiology*. 2008;108(3):495-505. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e318164cf9e>
- Bouw MR, Xie R, Tunblad K, Hammarlund-Udenaes M. Blood-brain barrier transport and brain distribution of morphine-6-glucuronide in relation to the antinociceptive effect in rats-pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling. *Br J Pharmacol*. 2001;134(8):1796-1804. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704406>
- Min KC, Aziz A, Ahmad ZA, Rahim SK, Abdullah NS. Initial efforts in modelling mass transport in microdialysis probes: physical characterization of the microdialysis probe membrane. *Adv Mater Res*. 2015;1087:365-369. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.1087.365>
- Ungerstedt U. Microdialysis-principles and applications for studies in animals and man. *J Intern Med*. 1991;230(4):365-373. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.1991.tb00459.x>
- Osipova ED, Komleva YK, Morgun AV, Lopatina OL, Panina YA, Olovyanikova RY, Vais EF, Salmin VV, Salmina AB. Designing in vitro Blood-brain barrier Models Reproducing Alterations in Brain Aging. *Front Aging Neurosci*. 2018;10:1-14. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00234>
- Кувачева Н.В., Салмина А.Б., Комаева Ю.К., Малиновская Н.А., Моргунов А.В., Пожиленкова Е.А., Замай Г.С., Язуина Н.А., Петрова М.М. Проницаемость гематоэнцефалического барьера в норме, при нарушении развития головного мозга и нейродегенерации. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2013;113(4):80-85 [Kuvacheva NV, Salmina AB, Komaeva YuK, Malinovskaya NA, Morgun AV, Pozhilenkova EA, Zamai G.S., Yauzina N.A., Petrova M.M. Permeability of the hematoencephalic barrier in normalcy, brain development pathology and neurodegeneration. *Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2013;113(4):80-85. (In Russ.)]
- Моргунов А.В., Кувачева Н.В., Хилажева Е.Д., Горина Я.В., Таранушенко Т.Е., Пожиленкова Е.А., Салмина А.Б. Перинатальное поражение центральной нервной системы: по-

- вреждение и возможности восстановления гематоэнцефалического барьера. *Вопросы практической педиатрии*. 2015;10(4):29-37 [Morgun AV, Kuvacheva NV, Khilazheva ED, Gorina YaV, Taranushenko TE, Pozhilenkova EA, Salmina AB. Perinatal lesion of the central nervous system: damage and possibilities of restoring the blood-brain barrier. *Clinical Practice in Pediatrics*. 2015;10(4):29-37. (In Russ.).]
29. Салмина А.Б., Бойцова Е.Б., Моргунов А.В., Панина Ю.А., Горина Я.В., Писарева Н.В., Нода М., Кутищева И.А., Мартынова Г.П. Экспрессия NLRP3 инфламасом церебрального эндотелия при воспалении вирусного генеза in vitro. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017;16(4):242-249 [Salmina AB, Boytsova EB, Morgun AV, Panina YuA, Gorina YaV, Pisareva NV, Kutishcheva IA, Noda M, Martynova GP. Expression of cerebral endothelial NLRP3 inflammasome in viral inflammation in vitro. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017;16(4):242-249. (In Russ.).] <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2017-4-242-249>
  30. Моргунов А.В., Салмин В.В., Успенская Ю.А., Тепляшина Е.А., Салмина А.Б. Микрофлюидные технологии в изучении и моделировании гематоэнцефалического барьера. *Биомедицина*. 2016;4:22-23 [Morgun AV, Salmin VV, Uspenskaya YuA, Teplyashina EA, Salmina AB. Microfluidic technologies in studying and modelling the blood-brain barrier. *Biomedicine*. 2016;4:22-23. (In Russ.).]
  31. Anand G, Sharma S, Dutta AK, Kumar SK, Belfort G. Conformational transitions of adsorbed proteins on surfaces of varying polarity. *Langmuir*. 2010;26(26):10803-10811. <https://doi.org/10.1021/la1006132>
  32. Olivecrona M, Rodling-Wahlström M, Naredi S, Koskinen LO. Prostacyclin Treatment in Severe Traumatic Brain Injury: A Microdialysis and Outcome Study. *J Neurotrauma*. 2009;26(8):1251-1262. <https://doi.org/10.1089=neu.2008.0605>
  33. Thompson AC, Zapata A, Justice JB, Vaughan RA, Sharpe LG, Shippenberg TS. Kappa-opioid receptor activation modifies dopamine uptake in the nucleus accumbens and opposes the effects of cocaine. *J Neurosci*. 2000;20(24):9333-9340. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-24-09333.2000>
  34. Deguchi Y, Terasaki T, Kawasaki S, Tsuji A. Muscle microdialysis as a model study to relate the drug concentration in tissue interstitial fluid and dialysate. *J Pharmacobiodyn*. 1991;14(8):483-492.
  35. Zestos AG, Kennedy RT. Microdialysis Coupled with LC-MS/MS for In Vivo Neurochemical Monitoring. *AAPS J*. 2017;19(5):1284-1293. <https://doi.org/10.1208/s12248-017-0114-4>
  36. Löscher W, Friedman A. Structural, Molecular, and Functional Alterations of the Blood-Brain Barrier during Epileptogenesis and Epilepsy: A Cause, Consequence, or Both?. *Int J Mol Sci*. 2020;21(2):591. <https://doi.org/10.3390/ijms21020591>
  37. Potschka H, Baltes S, Fedrowitz M, Löscher W. Impact of seizure activity on free extracellular phenytoin concentrations in amygdala-kindled rats. *Neuropharmacology*. 2011;61(5-6):909-917. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.06.018>
  38. Ziemińska E, Toczyłowska B, Diamandakis D, Hilgier W, Filipkowski RK, Polowy R, Orzel J, Gorka M, Lazarewicz JW. Glutamate, Glutamine and GABA Levels in Rat Brain Measured Using MRS, HPLC and NMR Methods in Study of Two Models of Autism. *Front Mol Neurosci*. 2018;11:418. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00418>
  39. Potschka H, Fedrowitz M, Löscher W. P-Glycoprotein-mediated efflux of phenobarbital, lamotrigine, and felbamate at the blood-brain barrier: evidence from microdialysis experiments in rats. *Neurosci Lett*. 2002;263(2):173-176. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(02\)00423-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(02)00423-8)
  40. Hu Y, Rip J, Gaillard PJ, de Lange ECM, Hammarlund-Udenaes M. The Impact of Liposomal Formulations on the Release and Brain Delivery of Methotrexate: An In Vivo Microdialysis Study. *J Pharm Sci*. 2017;106(9):2606-2613. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.03.009>
  41. Ding JH, Sha LL, Chang J, Zhou XQ, Fan Y, Hu G. Alterations of striatal neurotransmitter release in aquaporin-4 deficient mice: An in vivo microdialysis study. *Neurosci Lett*. 2007;422(3):175-180. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.06.018>
  42. Wakabayashi T, Yamaguchi K, Matsui K, Sano T, Kubota T, Hashimoto T, Mano A, Yamada K, Matsuo Y, Kubota N, Kadowaki T, Iwatsubo T. Differential effects of diet- and genetically-induced brain insulin resistance on amyloid pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*. 2019;14(1):15. <https://doi.org/10.1186/s13024-019-0315-7>
  43. Liu CC, Zhao N, Fu Y, Wang N, Linares C, Tsai CW, Bu G. ApoE4 Accelerates Early Seeding of Amyloid Pathology. *Neuron*. 2017;96(5):1024-1032.e3. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.11.013>
  44. Białon M, Żamowska M, Antkiewicz-Michaluk L, Wąsik A. Pro-cognitive effect of 1MeTIQ on recognition memory in the ketamine model of schizophrenia in rats: the behavioural and neurochemical effects. *Psychopharmacology (Berl)*. 2020;237(6):1577-1593. <https://doi.org/10.1007/s00213-020-05484-1>
  45. Hettinger JC, Lee H, Bu G, Holtzman DM, Cirrito JR. AMPA-ergic regulation of amyloid-β levels in an Alzheimer's disease mouse model. *Mol Neurodegener*. 2018;13(1):22. <https://doi.org/10.1186/s13024-018-0256-6>
  46. Wilson RE, Jaquins-Gerstl A, Weber SG. On-Column Dimethylation with Capillary Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for Online Determination of Neuropeptides in Rat Brain Microdialysate. *Anal Chem*. 2018;90(7):4561-4568. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04965>
  47. Wang Y, Liu S, Wang R, Shi L, Liu Z, Liu Z. Study on the therapeutic material basis and effect of *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms leaves in the treatment of ischemic stroke by PK-PD analysis based on online microdialysis-LC-MS/MS method. *Food Funct*. 2020;11(3):2005-2016. <https://doi.org/10.1039/c9fo02475a>
  48. Papadimitriou L, Manganas P, Ranella A, Stratakis E. Biofabrication for neural tissue engineering applications. *Mater Today Bio*. 2020;6:100043. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2020.100043>
  49. Saylor RA, Lunte SM. A review of microdialysis coupled to microchip electrophoresis for monitoring biological events. *J Chromatogr A*. 2015;1382:48-64. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.12.086>
  50. Nandi P, Lunte SM. Recent trends in microdialysis sampling integrated with conventional and microanalytical systems for monitoring biological events: A review. *Anal Chim Acta*. 2009;651(1):1-14. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.07.064>
  51. Sandlin ZD, Shou M, Shackman JG, Kennedy RT. Microfluidic electrophoresis chip coupled to microdialysis for in vivo monitoring of amino acid neurotransmitters. *Anal Chem*. 2005;77(23):7702-7708. <https://doi.org/10.1021/ac051044z>
  52. Samper IC, Gowers SAN, Rogers ML, Murray DRK, Jewell SL, Pahl C, Strong AJ, Boutelle MG. 3D printed microfluidic device for online detection of neurochemical changes with high temporal resolution in human brain microdialysate. *Lab Chip*. 2019;19(11):2038-2048. <https://doi.org/10.1039/c9lc00044e>
  53. van den Brink FTG, Phisankunkasem T, Asthana A, Bomer JG, van den Maagdenberg AMJM, Tolner EA, Odijk M. A miniaturized push-pull-perfusion probe for fewsecond sampling of neurotransmitters in the mouse brain. *Lab Chip*. 2019;19(8):1332-1343. <https://doi.org/10.1039/c8lc01137k>
  54. Nielsen TH, Olsen NV, Toft P, Nordström CH. Cerebral energy metabolism during mitochondrial dysfunction induced by cyanide in piglets. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2013;57(6):793-801. <https://doi.org/10.1111/aas.12092>
  55. Havelund JF, Nygaard KH, Nielsen TH, Nordström CH, Poulsen FR, Færgeman NJ, Forssé A, Gramsbergen JB. In Vivo Microdialysis of Endogenous and <sup>13</sup>C-labeled TCA Metabolites in Rat Brain: Reversible and Persistent Effects of Mitochondrial Inhibition and Transient Cerebral Ischemia. *Metabolites*. 2019;9(10):E204. <https://doi.org/10.3390/metabo9100204>
  56. Thelin EP, Carpenter KL, Hutchinson PJ, Helmy A. Microdialy-



sis Monitoring in Clinical Traumatic Brain Injury and Ist Role in Neuroprotective Drug Development. *AAPS J.* 2017;19(2):367-376. <https://doi.org/10.1208/s12248-016-0027-7>  
57. Nordström CH, Nielsen TH, Schalén W, Reinstrop P, Ungerstedt

U. Biochemical indications of cerebral ischaemia and mitochondrial dysfunction in severe brain trauma analysed with regard to type of lesion. *Acta Neurochir (Wien).* 2016;158(7):1231-1240. <https://doi.org/10.1007/s00701-016-283>

## Сведения об авторах

**Харитоновна Екатерина Викторовна**, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, научный сотрудник Российско-японской лаборатории изучения социального мозга научно-исследовательского института молекулярной медицины и патобиохимии, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1).

**Вклад в статью:** написание статьи.

**ORCID:** 0000-0002-1359-9249

**Лопатина Ольга Леонидовна**, доктор биологических наук, PhD, профессор кафедры биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, руководитель Российско-японской лаборатории изучения социального мозга научно-исследовательского института молекулярной медицины и патобиохимии, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1); профессор, ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет» (660041, Россия, г. Красноярск, пр. Свободный, 79).

**Вклад в статью:** переработка ее важного интеллектуального содержания.

**ORCID:** 0000-0002-7884-2721

**Марченко Сергей Александрович**, стажер-исследователь Российско-японской лаборатории изучения социального мозга научно-исследовательского института молекулярной медицины и патобиохимии, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1).

**Вклад в статью:** активное участие в написании первого варианта статьи.

**ORCID:** 0000-0001-8141-7526

**Горина Яна Валерьевна**, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1).

**Вклад в статью:** переработка ее важного интеллектуального содержания.

**ORCID:** 0000-0002-3341-1557

**Салмина Алла Борисовна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, руководитель научно-исследовательского института молекулярной медицины и патобиохимии, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1).

**Вклад в статью:** утверждение окончательной версии для публикации.

**ORCID:** 0000-0003-4012-6348

Статья поступила: 27.05.2020г.

Принята в печать: 29.08.2020г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

## Authors

**Dr. Ekaterina V. Kharitonova**, MD, PhD, Senior Lecturer, Department of Biological, Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry; Research Fellow, Russian-Japanese Laboratory of Social Brain, Research Institute of Molecular Medicine and Pathological Biochemistry, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation)

**Contribution:** wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-1359-9249

**Prof. Olga L. Lopatina**, DSc, Professor, Department of Biological, Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Head of the Russian-Japanese Laboratory of Social Brain, Research Institute of Molecular Medicine and Pathological Biochemistry, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation); Professor, Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation ((79, Svobodnyi Prospekt, Krasnoyarsk, 660041, Russian Federation)

**Contribution:** wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-7884-2721

**Dr. Sergey A. Marchenko**, Research Associate, Russian-Japanese Laboratory of Social Brain, Research Institute of Molecular Medicine and Pathological Biochemistry, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation)

**Contribution:** wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0001-8141-7526

**Dr. Yana V. Gorina**, MD, PhD, Associate Professor, Department of Biological, Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation)

**Contribution:** wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-3341-1557

**Prof. Alla B. Salmina**, MD, DSc, Head of the Department of Biological, Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Head of the Research Institute of Molecular Medicine and Pathological Biochemistry, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation)

**Contribution:** wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0003-4012-6348

Received: 27.05.2020

Accepted: 29.08.2020

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.