

© ГОРИНА Я. В., ЛОПАТИНА О. Л., КОМЛЕВА Ю. К., ИПТЫШЕВ А. М., ПОЛЬНИКОВ А. М., САЛМИНА А. Б.

УДК 612.821.2:57.084.1

## ВОСЬМИРУКАВНЫЙ РАДИАЛЬНЫЙ ЛАБИРИНТ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПРОСТРАНСТВЕННОГО ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ У МЫШЕЙ

Я. В. Горина, О. Л. Лопатина, Ю. К. Комлева, А. М. Иптышев, А. М. Польшников, А. Б. Салмина  
ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого  
Министерства здравоохранения РФ, ректор – д. м. н., проф. И. П. Артюхов; кафедра биологической химии  
с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, зав. – д. м. н., проф. А. Б. Салмина,  
НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, рук. – д. м. н., проф. А. Б. Салмина.

**Цель исследования.** Разработка протокола теста «Восьмирукавный радиальный лабиринт» с предварительным привыканием к тестовой среде для оценки пространственного обучения и памяти у мышей.

**Материалы и методы.** Объект исследования – мыши линии CD1 (самцы в возрасте 4 месяцев,  $n=10$ ). Тест «Восьмирукавный радиальный лабиринт» использовали для оценки рабочей и долговременной пространственной памяти.

**Результаты.** На протяжении всего периода тестирования (6 дней) наблюдается тенденция к повышению среднего балла памяти, что свидетельствует об активации оперативной и долговременной пространственной памяти.

**Заключение.** Результаты теста «Восьмирукавный радиальный лабиринт» могут служить дополнением к батарее нейроповеденческих тестов для оценки когнитивных нарушений, связанных с развитием различных заболеваний, в частности нейродегенерации.

**Ключевые слова:** восьмирукавный радиальный лабиринт, обучение, рабочая память, когнитивная функция.

## RADIAL ARM MAZE AS A TOOL FOR ASSESS THE SPATIAL LEARNING AND MEMORY IN MICE

Ya. V. Gorina, O. L. Lopatina, Yu. K. Komleva, A. M. Iptyshev, A. M. Pol'nikov, A. B. Salmina  
Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky

**Aim of the research.** To development of protocol test «Radial arm maze» with pre-habituation to environment for the evaluation spatial learning and memory in mice.

**Materials and methods.** Mouse (line CD1, 4 months,  $n = 10$ ). Test «Radial arm maze» was used to evaluate the work and the long-term spatial memory.

**Results.** There is a tendency to an increase in the average score of memory. This indicates of activation of the operational and long-term spatial memory during the entire test period (6 days).

**Conclusion.** The results of the test «Radial arm maze» can serve as a complement to battery of the neurobehavioral tests for the evaluation cognitive impairment associated with the development of various diseases, such as neurodegeneration.

**Key words:** radial arm maze, training, working memory, cognitive function.

## Введение

Возможности памяти, которые зависят от функциональной целостности гиппокампа, особенно уязвимы в процессе старения организма [6, 8]. Нейроповеденческий тест, используемый для оценки обучения и рабочей/долговременной памяти, находящейся под контролем гиппокампа, является радиальный восьмирукавный лабиринт (ВРЛ). Это чувствительный, надежный и гибкий метод тестирования, который базируется на использовании инстинкта грызунов по исследованию новых мест в сочетании с пищевым подкреплением [10]. Животное, впервые попавшее в новую среду, выражает страх и беспокойство, которое, как правило, стихает после повторной сессии. Поэтому процесс обучения и исследования пространственной памяти в ВРЛ предполагает проведение нескольких сессий перед началом непосредственного тестирования с целью привыкания и, как следствие, снятия эмоциональной напряженности в ответ на новизну среды. Однако, период привыкания определяется априорно и может колебаться в широких пределах: от одного до пяти или более дней [5, 12]. Кроме того, на этапе обучения во все рукава лабиринта кладут пищевую приманку, чтобы поощрить процесс изучения грызуном новой среды. Далее животное помещают в центр лабиринта и дают возможность тщательно изучить устройство, подкрепляя исследовательский интерес пищевой наградой. Эффективное обучение позволяет животному лучше ориентироваться в пространстве на этапе тестирования. Данные тестирования записывают как количество входов в рукава. При этом оценку рабочей и долговременной пространственной памяти оценивают по способности грызуна запоминать рукав лабиринта, в котором он ранее получил пищевую награду, и, следовательно, повторно в него не заходить, а изучать новые рукава [3].

Таким образом, цель настоящего исследования – это разработка протокола теста «Восьмирукавный радиальный лабиринт» с предварительным привыканием к тестовой среде для оценки пространственного обучения и памяти у мышей.

## Материалы и методы

### 1. Животные

Объектом исследования являлись мыши линии CD1 – самцы в возрасте 4 месяцев ( $n = 10$ ).

Животных содержали в индивидуально вентилируемых клетках по 5 голов (с момента отлучения от матери и до достижения ими необходимого возраста) со свободным доступом к воде и корму при постоянной температуре  $21 \pm 1$  °C и регулярном световом цикле 12 ч день/12 ч ночь.

Исследования на животных проводили в соответствии с соблюдением принципов гуманности, изложенных в Директиве Европейского сообщества (2010/63/ЕС).

### 2. Нейроповеденческое тестирование

Тест использовали для оценки рабочей и долговременной пространственной памяти [11].

Устройство для проведения тестирования представляет собой восьмирукавный радиальный лабиринт (длина радиальных рукавов 35 см, ширина радиальных рукавов 6 см, диаметр центральной части 20 см, высота стенок 15 см, высота над полом 50 см), выполненный из серого ПВХ. Каждый рукав лабиринта отделён от центральной площадки съёмной гильотинной дверкой. В конце каждого рукава располагается кормушка для пищевого подкрепления, отделенная гильотинной дверкой. Поведение регистрировали с помощью подвесной камеры, установленной над лабиринтом.

Протокол тестирования (рис. 1) был разработан на основании ранее представленного протокола S.H. Richter et al. [12]. Тестирование проводили 2 раза в день с перерывом в течение 60 мин. (оценка оперативной памяти) в течение 6 дней подряд

с перерывом на 5-й день тестирования (оценка долговременной памяти). Тестирование состояло из нескольких этапов:

1 этап – Привыкание

Для знакомства с устройством животное помещали в центре лабиринта. Через одну минуту одновременно открывали все восемь гильотинных дверей с предварительным помещением на конце каждого рукава пищевой награды (сахар), и позволяли животному исследовать весь аппарат в течение 5 мин. Затем закрывали все двери, оставляя животное в центре лабиринта на 30 сек. После вновь одновременно открывали все восемь гильотинных дверей для исследования устройства в течение 5 мин. с последующим закрытием дверей и оставлением животного в центре лабиринта на 30 сек. Затем снова одновременно открывали все восемь гильотинных дверей для исследования устройства в течение 5 мин.

2 этап – Тест

Состоял из трех фаз: тренировки, задержки и тестирования. На фазе тренировки в течение 5 мин. животное исследовало четыре случайно выбранных рукава с предварительным помещением на конце каждого рукава кусочка сахара, а остальные четыре рукава были заблокированы с помощью гильотинных дверей. Затем закрывали все двери, оставляя животное в центре лабиринта на 30 сек. (фаза задержки). На фазе тестирования, которая длилась 5 мин., одновременно открывали все восемь дверей, предварительно размещая пищевую награду только в те рукава, которые ранее были заблокированы. Таким образом, животное должно было входить только в те рукава, которые были закрыты на фазе тренировки.

3 этап – Повторить этап 2 через 60 мин.

Пространственную память оценивали по количеству входов в рукава, при этом однократный

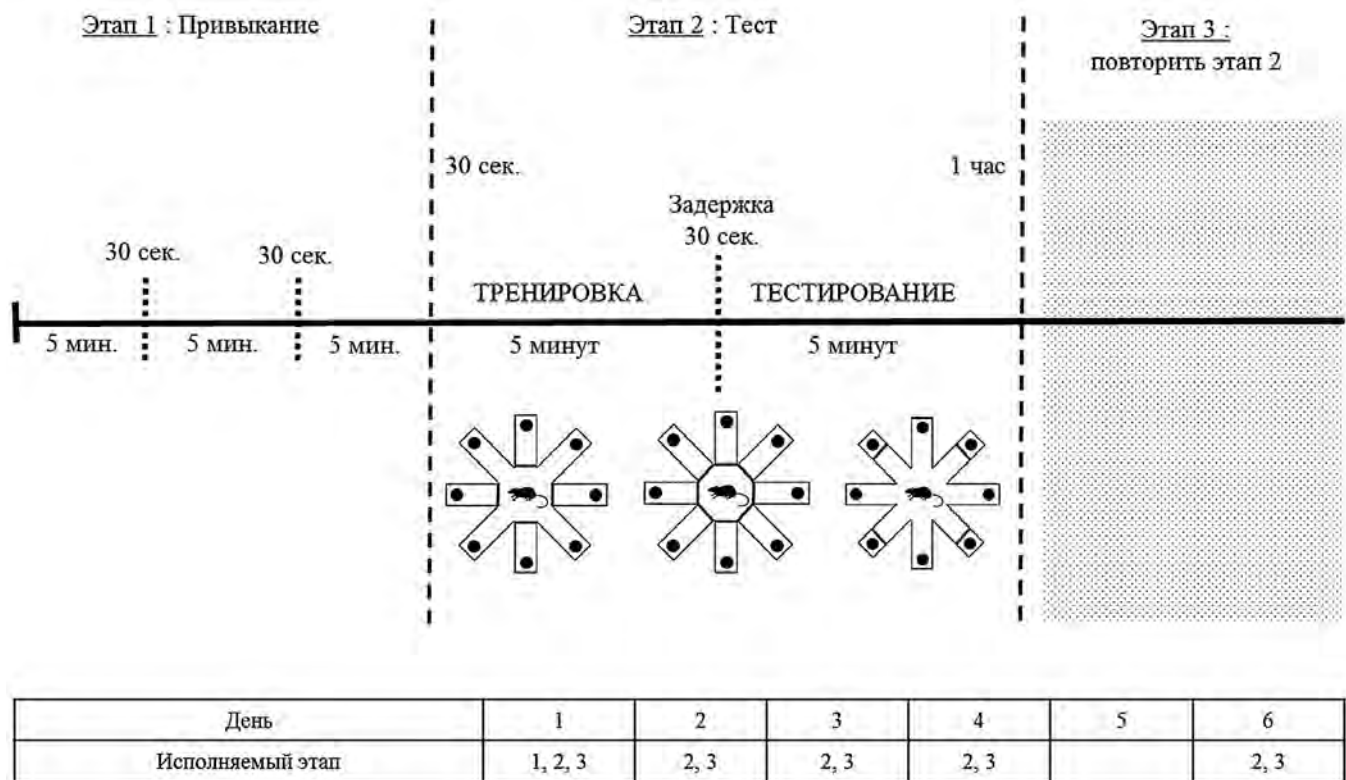


Рис. 1. Протокол теста «Восьмирукавный радиальный лабиринт».

вход в рукава считался корректным, тогда как повторный вход в рукав — некорректным (ошибкой).

Общая оценка памяти была рассчитана следующим образом [12]:

$$\text{Оценка памяти} = \frac{((\text{количество корректных входов}) - (\text{количество некорректных входов}))}{((\text{количество корректных входов}) + (\text{количество некорректных входов}))}$$

#### Статистический анализ

Статистический анализ полученных результатов включал методы описательной статистики с использованием программы Statplus 2006 и пакета анализа программы MS Excel 2010. В пределах каждой выборки определяли среднее арифметическое и ошибку среднего. Сравнение средних осуществляли с помощью Т-теста при уровне значимости  $p \leq 0,05$ . Все результаты представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  — среднее значение,  $m$  — ошибка среднего,  $p$  — уровень значимости.

#### Результаты и обсуждение

Восьмирукавный радиальный лабиринт является надежным инструментом для изучения рабочей и долговременной пространственной памяти на многих моделях животных [1, 4]. Существуют различные конфигурации ВРА и процедуры тестирования в зависимости от объекта (модели на животных) и поставленной цели исследования [2, 7, 9, 13].

Продолжительность тестирования (количество дней) определяется экспериментальным путем, при этом протокол адаптируется таким образом, чтобы выбранное количество дней тестирования в конечном итоге приводило к достижению оптимального результата [11].

Важно подчеркнуть и тот факт, что включение в протокол теста этапа привыкания дает возможность снизить эмоциональную нагрузку у животного при попадании его в новую среду,

и следовательно, более эффективно провести этап тренировки и непосредственно тестирования для получения качественного результата [12, 14].

Оперативную и долговременную пространственную память анализировали, используя подсчет количества корректных и некорректных входов в рукава на 2 и 3 этапе теста в фазе тестирования.

В первый день тестирования, после предварительной тренировки, животные показали средний балл памяти ( $-0,54 \pm 0,02$ ), который на второй день снизился до ( $-0,64 \pm 0,08$ ), однако в течение последующих четырех дней тестирования наблюдалась тенденция к увеличению данного показателя до достижения среднего балла ( $-0,48 \pm 0,15$ ,  $p = 0,408$ ) на шестой день тестирования, что указывает на снижение количества ошибок, совершаемых животным, а именно, повторных входов в рукав, свидетельствующее об активации когнитивных функций (внимание, память, принятие решений) (рис. 2).

Следует отметить, что при перерыве на 5-й день тестирования наблюдалась тенденция к увеличению среднего балла памяти от четвертого

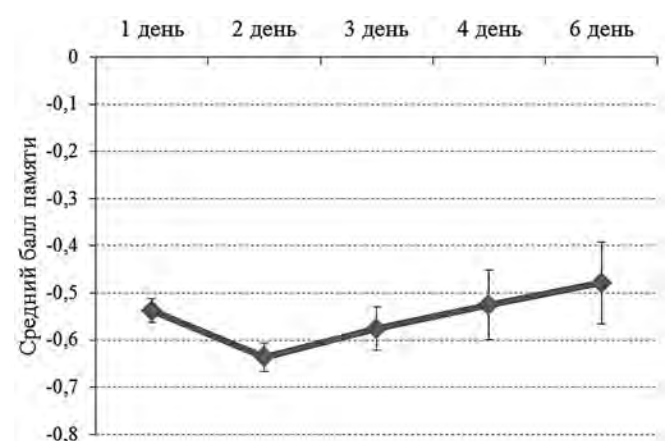


Рис. 2. Результат нейроповеденческого тестирования «Восьмирукавный радиальный лабиринт»: средний балл памяти, зависящий от количества корректных и некорректных входов в рукава. Каждая точка означает среднее значение балла памяти в фазе тестирования за один день. \* — сравнение среднего балла памяти между днями тестирования ( $p \leq 0,05$ ).

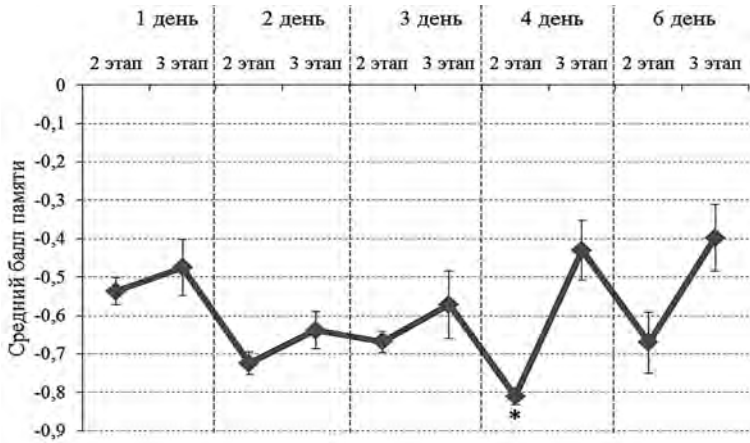


Рис. 3. Результат нейроповеденческого тестирования «Восьмирукавный радиальный лабиринт»: средний балл памяти, зависящий от количества корректных и некорректных входов в рукава. Каждая точка означает среднее значение балла памяти 2 и 3 этапа теста в фазе тестирования за один день. \* – сравнение среднего балла памяти между 2 и 3 этапами теста в фазе тестирования за один день ( $p \leq 0,05$ ).

к шестому дню тестирования ( $-0,53 \pm 0,07$  и  $-0,48 \pm 0,15$ , соответственно, при  $p = 0,819$ ), а именно, уменьшение количества некорректных (повторных) входов в рукава, что указывает на активацию долговременной пространственной памяти (рис. 2).

Дальнейшее графическое и статистическое исследование показало, что при двукратном тестировании в течение одного дня с перерывом в течение 60 мин. наблюдается тенденция к повышению среднего балла памяти ( $-0,72 \pm 0,03$  и  $-0,64 \pm 0,05$ , соответственно, при  $p = 0,173$ ) (рис. 3). Это отмечается в каждом дне на протяжении всего периода тестирования (рис. 3), что свидетельствует об активации оперативной (рабочей) пространственной памяти.

В целом, полученные данные позволяют использовать протокол теста «Восьмирукавный радиальный лабиринт» для оценки пространственного обучения и долговременной памяти у грызунов.

### Заключение

Для более полного понимания нарушений в поведении при развитии того или иного заболевания, необходимо использовать когнитивные тесты,

имеющие высокую прогностическую валидность, чувствительность, эффективность, надежность, информативность. ВРЛ является относительно легким в проведении, достаточно гибким и чувствительным к повреждениям в ЦНС, что находит свое отражение в нарушении поведения. В связи с этим, результаты теста «Восьмирукавный радиальный лабиринт» являются отличным дополнением к батарее нейроповеденческих тестов, тем самым внося весомый вклад в неинвазивную оценку когнитивных нарушений, связанных с развитием различных заболеваний, в частности нейродегенерации.

*Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ РФ (НШ-10241.2016.7).*

### Литература

1. Acosta J.I., Hiroi R., Camp B.W., Talboom J.S., Bimonte-Nelson H.A. An update on the cognitive impact of clinically-used hormone therapies in the female rat: Models, mazes and mechanisms // *Brain Res.* – 2013. – Vol. 13. – P. 18-39.
2. Dillon G.M., Qu X., Marcus J.N., Dodart J.C. Excitotoxic lesions restricted to the dorsal CA1 field of the hippocampus impair spatial memory and extinction learning in C57BL/6 mice // *Neurobiol. Learn Mem.* – 2008. – Vol. 90. – P. 426-433.
3. Dubreuil D., Tixier C., Dutrieux G., Edeline J.M. Does the radial arm maze necessarily test spatial memory? // *Neurobiol. Learn Mem.* – 2003. – Vol. 79. – P. 109-117.
4. Ennaceur A. Omission of the habituation procedure in the acquisition of a working memory task – evidence from Balb/c, C57/BL6J, and CD-1 mice // *Behav. Brain Res.* – 2011. – Vol. 223. – P. 203-210.

5. Janitzky K., Schwegler H., Kröber A., Roskoden T., Yanagawa Y., Linke R. Speciesrelevant inescapable stress differently influences memory consolidation and retrieval of mice in a spatial radial arm maze // *Behav. Brain Res.* – 2011. – Vol. 219. – P. 142-148.
6. Jinno S.J. Aging affects new cell production in the adult hippocampus: A quantitative anatomic review // *J. Chem. Neuroanat.* – 2016. – Vol. 76. – P. 64-72.
7. LaBuda C.J., Mellgren R.G., Hale R.L. Sex differences in the acquisition of a radial maze task in the CD-1 mouse // *Physiol. Behav.* – 2002. – Vol. 76. – P. 213-217.
8. Leal S.L., Yassa M.A. Neurocognitive Aging and the Hippocampus across Species // *Trends Neurosci.* – 2015. – Vol. 38. – P. 800-812.
9. Mineur Y.S., Crusio W.M. Behavioral effects of ventilated micro-environment housing in three inbred mouse strains // *Physiol. Behav.* – 2009. – Vol. 97. – P. 334-340.
10. Olton D., Collison C., Werz M. Spatial memory and radial-arm maze performance of rats // *Learn Motiv.* – 1977. – Vol. 8. – P. 289-314.
11. Penley S.C., Gaudet C.M., Threlkeld S.W. Use of an eight-arm radial water maze to assess working and reference memory following neonatal brain injury // *J. Vis. Exp.* – 2013. – Vol. 82. DOI: 10.3791/50940.
12. Richter S.H., Zeuch B., Lankisch K., Gass P., Durstewitz D., Vollmayr B. Where have I been? Where should I go? Spatial working memory on a radial arm maze in a rat model of depression // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8. – e62458.
13. Stevens L.M., Brown R.E. Reference and working memory deficits in the 3xTg-AD mouse between 2 and 15-months of age: a cross-sectional study // *Behav. Brain Res.* – 2015. – Vol. 278. – P. 496-505.
14. Quillfeldt J.A. Behavioral Methods to Study Learning and Memory in Rats. In Andersen M.L. and Tufik S. *Rodent Model as Tools in Ethical Biomedical Research.* – Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG, 2016. – P. 271-311.

### References

1. Acosta J.I., Hiroi R., Camp B.W., Talboom J.S., Bimonte-Nelson H.A. An update on the cognitive impact of clinically-used hormone therapies in the female rat: Models, mazes and mechanisms // *Brain Res.* – 2013. – Vol. 13. – P. 18-39.
2. Dillon G.M., Qu X., Marcus J.N., Dodart J.C. Excitotoxic lesions restricted to the dorsal CA1 field of the hippocampus impair spatial memory and extinction learning in C57BL/6 mice // *Neurobiol. Learn Mem.* – 2008. – Vol. 90. – P. 426-433.
3. Dubreuil D., Tixier C., Dutrieux G., Edeline J.M. Does the radial arm maze necessarily test spatial memory? // *Neurobiol. Learn Mem.* – 2003. – Vol. 79. – P. 109-117.
4. Ennaceur A. Omission of the habituation procedure in the acquisition of a working memory task - evidence from Balb/c, C57/BL6J, and CD-1 mice // *Behav. Brain Res.* – 2011. – Vol. 223. – P. 203-210.
5. Janitzky K., Schwegler H., Kröber A., Roskoden T., Yanagawa Y., Linke R. Speciesrelevant inescapable stress differently influences memory consolidation and retrieval of mice in a spatial radial arm maze // *Behav. Brain Res.* – 2011. – Vol. 219. – P. 142-148.
6. Jinno S.J. Aging affects new cell production in the adult hippocampus: A quantitative anatomic review // *J. Chem. Neuroanat.* – 2016. – Vol. 76. – P. 64-72.
7. LaBuda C.J., Mellgren R.G., Hale R.L. Sex differences in the acquisition of a radial maze task in the CD-1 mouse // *Physiol. Behav.* – 2002. – Vol. 76. – P. 213-217.

8. Leal S.L., Yassa M.A. Neurocognitive Aging and the Hippocampus across Species // *Trends Neurosci.* – 2015. – Vol. 38. – P.800-812.

9. Mineur Y.S., Crusio W.M. Behavioral effects of ventilated micro-environment housing in three inbred mouse strains // *Physiol. Behav.* – 2009. – Vol. 97. – P. 334-340.

10. Olton D., Collison C., Werz M. Spatial memory and radial-arm maze performance of rats // *Learn Motiv.* – 1977. – Vol. 8. – P. 289-314.

11. Penley S.C., Gaudet C.M., Threlkeld S.W. Use of an eight-arm radial water maze to assess working and reference memory following neonatal brain injury // *J. Vis. Exp.* – 2013. – Vol. 82. DOI: 10.3791/50940.

12. Richter S.H., Zeuch B., Lankisch K., Gass P., Durstewitz D., Vollmayr B. Where have I been? Where should I go? Spatial working memory on a radial arm maze in a rat model of depression // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8. – e62458.

13. Stevens L.M., Brown R.E. Reference and working memory deficits in the 3xTg-AD mouse between 2 and 15-months of age: a cross-sectional study // *Behav. Brain Res.* – 2015. – Vol. 278. – P. 496-505.

14. Quillfeldt J.A. Behavioral Methods to Study Learning and Memory in Rats. In Andersen M.L. and Tufik S. *Rodent Model as Tools in Ethical Biomedical Research.* – Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG, 2016. – P. 271-311.

#### Сведения об авторах

Горина Яна Валерьевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел. 8(391) 2280769; e-mail: yana\_20@bk.ru.

Лопатина Ольга Леонидовна – кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел. 8(391) 2280769; e-mail: ol.lopatina@gmail.com.

Комлева Юлия Константиновна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел. 8(391) 2280769; e-mail: yuliakomleva@mail.ru.

Иптышев Александр Максимович – студент лечебного факультета, ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; сот. 8(923) 3698824; e-mail: alexandriptshev@gmail.com.

Польников Андрей Михайлович – студент лечебного факультета, ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; сот. 8(923) 3698824; e-mail: andrcool@inbox.ru.

Салмина Алла Борисовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, руководитель НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел. 8(391) 2280769; e-mail: allasalmina@mail.ru.

#### Authors

Gorina Yana Valer'evna – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Assistant Professor of Department of Biological Chemistry with Courses of Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry of Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russia Federation.

Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone 8(391) 2280769; e-mail: yana\_20@bk.ru@mailto.

Lopatina Olga Leonidovna – PhD, Assistant Professor of Department of Biological Chemistry with Courses of Medical, Pharmaceutical and Poxicological Chemistry of Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russia Federation.

Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone 8(391) 2280769; e-mail: ol.lopatina@gmail.com.

Komleva Yuliya Konstantinovna – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor of Department of Biological Chemistry with Courses of Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry of Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russia Federation.

Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone 8(391) 2280769; e-mail: yuliakomleva@mail.ru.

Iptyshev Aleksandr Maksimovich – Student of the Medical Faculty of Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russia Federation.

Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone 8(391) 2280769; e-mail: alexandriptshev@gmail.com.

Pol'nikov Andrei Mikhailovich – Student of the Medical Faculty of Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russia Federation.

Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone 8(391) 2280769; e-mail: andrcool@inbox.ru.

Salmina Alla Borisovna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Biological Chemistry with Courses of Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Head of the Research Institute of Molecular Medicine and Pathological Biochemistry of Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russia Federation.

Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone 8(391) 2280769; e-mail: allasalmina@mail.ru.