

**Адрес редакции:**

125315, Москва, ул. Балтийская, 8.  
ФГБНУ «НИИ общей патологии  
и патофизиологии», к. 379

E-mail: path.physiol@yandex.ru

Сайт: www.pfiet.ru

Зав. редакцией Н.Р. Соболев  
+7 906 793 5467

**Издатель:** Иришкин Дмитрий  
**E-mail:** genius-media@mail.ru

Входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК России для публикации значимых результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук

Двухлетний импакт-фактор  
по версии РИНЦ на 2018 г.: 0,517

Подписной индекс по каталогам:  
«Роспечать»: 71456  
«Урал-Пресс»: 71456

Формат издания: 205×265 мм  
Печать: цифровая  
Тираж 300 экз.  
Цена свободная

Сдано в набор 22.05.2021  
Подписано к печати 11.06.2021  
Опубликовано 30.06.2021

Отпечатано: ООО «ПКФ «СОЮЗ-ПРЕСС»  
Адрес типографии:  
150062, г. Ярославль,  
проезд Доброхотова, д. 16

ISSN 0031-2991

Пат. физиол. и экспер. тер.  
2021. Том 65. № 2. 1–128

Перепечатка материалов и использование их в любой форме, в том числе и в электронных СМИ, возможны только с письменного разрешения издателя. За содержание рекламных публикаций ответственность несет рекламодатель.

© ИП Иришкин Дмитрий Андреевич, 2021.

ISSN 0031-2991



9 770031 299001

Российская академия наук  
Общество патофизиологов  
«НИИ Общей патологии и патофизиологии»

# ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

*Ежеквартальный рецензируемый научно-практический журнал  
Основан в 1957 г.*

## Том 65 № 2 · 2021

Апрель–Июнь

**Главный редактор:**

**Б.Б. Мороз**, *акад. РАН, д.м.н., проф., ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, Москва*

**Заместители главного редактора:**

**И.С. Гушин**, *чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., Институт иммунологии, Москва*

**Ответственный секретарь:**

**Н.С. Гурко**, *к.м.н., НИИОПП, Москва*

**Редакционная коллегия:**

**Ю.В. Архипенко**, *д.б.н., проф., МГУ, Москва*  
**Е.И. Асташкин**, *д.б.н., проф., Первый МГМУ, Москва*  
**С.В. Грачев**, *акад. РАН, д.м.н., проф., Первый МГМУ, Москва*  
**Т.А. Гуськова**, *чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ЯГПУ, Ярославль*  
**Г. Дауни**, *д.б.н., проф., Университет Северного Техаса, Форт-Уэрт, Техас, США*  
**А.В. Ефремов**, *д.м.н., проф., НГМУ, Новосибирск*  
**В.Б. Кошелев**, *д.б.н., проф., МГУ, Москва*  
**Н.А. Крупина**, *д.б.н., НИИОПП, Москва*  
**А.А. Кубатиев**, *акад. РАН, д.м.н., проф., НИИОПП, Москва*  
**П.Ф. Литвицкий**, *чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., Первый МГМУ, Москва*  
**Р. Маллет**, *д.м.н., проф., Университет Северного Техаса, Форт-Уэрт, Техас, США*  
**О. Мацуо**, *д.б.н., проф., Университет Киндай, Хигасиосака, Япония*  
**Г.В. Порядин**, *чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., РНИМУ, Москва*  
**Р. Сьюелл**, *д.б.н., проф., Университет Кардиффа, Кардифф, Великобритания*

**Редакционный совет:**

**Ю.Ю. Бяловский**, *д.м.н., проф., РязГМУ, Рязань*  
**В.Т. Долгих**, *д.м.н., проф., ОГМУ, Омск*  
**А.М. Дыгай**, *акад. РАН, д.м.н., проф., Томский НИМЦ РАН, Томск*  
**Д.А. Еникеев**, *д.м.н., проф., БГМУ, Уфа*  
**В.П. Куликов**, *д.м.н., проф., АМИПДО, Барнаул*  
**В.П. Михайлов**, *д.м.н., проф., ЯГМУ, Ярославль*  
**В.Г. Овсянников**, *д.м.н., проф., РостГМУ, Ростов-на-Дону*  
**С.Н. Орлов**, *д.б.н., проф., МГУ, Москва*  
**Н.Н. Петрищев**, *д.м.н., проф., ПСПбГМУ, Санкт-Петербург*  
**Л.А. Северьянова**, *д.м.н., проф., КГМУ, Курск*  
**В. Шварц**, *д.м.н., проф., Саарский Университет, Холбург/Саар, Германия*

**Mailing address:**

Baltiyskaya str., 8, Moscow, 125315,  
Russian Federation,  
Institute of General Pathology  
and Pathophysiology, Room 379

**E-mail:** path.physiol@yandex.ru

**Home page:** www.pfiet.ru

Head of Editors N.R. Sobol  
+7 906 793 5467

**Publisher:** Dmitry Irishkin

**E-mail:** genius-media@mail.ru

The Journal is Included in the List of Leading Peer-reviewed Scientific Journals and Publications, recommended by the Higher Attestation Commission of Russia for publication of significant results of the theses of applicants for a PhD and DSc degrees.

Two-year impact factor  
according to RSCI on 2018 was 0.517

Subscription Index in «Rospechat»: 71456  
Subscription Index in «Ural Press»: 71456

Publication format: 205 × 265 mm  
Printing: DigitalCirculation: 300 copies  
The price is not fixed

Sent into set on 22.05.2020  
Signed for publication on 11.06.2020  
Published on 30.06.2020

Printed: LLC «PKF «SOYUZ-PRESS»  
Printing house address:  
16 Dobrokhotov passage  
150062, Yaroslavl, Russian Federation

**ISSN** 0031-2991

Pat Fiziol Eksp Ter  
2021. Volume 65. No 2. 1-128

Reprinting and use journal materials in any form, including electronic media, only possible with written permission of the publisher. The responsibility for the content of advertising publications is on the advertisers exclusively.

© IE Irishkin Dmitry Andreevich, 2021.

ISSN 0031-2991



9 770031 299001

Russian Academy of Sciences

Russian Society of Pathophysiologists

With the support of the Research Institute of General Pathology and Pathophysiology

# PATOLOGICHESKAYA FIZIOLOGIYA I EKSPERIMENTAL'NAYA TERAPIYA

*Pathological physiology and experimental therapy*

*Quarterly reviewed science and practical journal*

*Published since 1957*

Vol. 65 № 2 · 2021  
April–June

**Editor in chief:**

**B.B. Moroz**, *Acad. RAS, DSc, Prof., Federal Med. Biophysical Center, Moscow, Russia*

**Assistant editors in chief:**

I.S. Gushchin, *Corr. Member of RAS, Dsc, Prof., Inst. of Immunology, Moscow, Russia*

**Executive editor:**

N.S. Gourko, *PhD, Inst. of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia*

**Editorial Board:**

Yu.V. Archipenko, *DSc, Prof., Moscow State University, Moscow, Russia*

E.I. Astashkin, *DSc, Prof., First Moscow State Medical University, Moscow, Russia*

H. Downey, *PhD, Prof., University of North Texas, Fort Worth (TX), USA*

S.V. Grachev, *Acad. RAS, DSc, Prof., First Mos. State Med. University, Moscow, Russia*

T.A. Guskova, *Corr. Member of RAS, Dsc, Prof., Inst. of Immunology, Moscow, Russia*

A.V. Efremov, *DSc, Prof., Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia*

V.B. Koshelev, *DSc, Prof., Moscow State University, Moscow, Russia*

N.A. Krupina, *DSc, Inst. of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia*

A.A. Kubatiev, *Acad. RAS, DSc, Prof., Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia*

P.F. Litvitskiy, *Corr. M. of RAS, DSc, Prof., Moscow State Med. Univ., Moscow, Russia*

R. Mallet, *PhD, Prof., University of North Texas, Fort Worth (TX), USA*

O. Matsuo, *PhD, Prof., Kindai University, Higashiosaka, Japan*

G.V. Poryadin, *Corr. M. of RAS, DSc, Prof., National Research Med. Univ., Mos., Russia*

R. Sewell, *PhD, Prof., Cardiff University, Cardiff, UK*

**Advisory Committee**

Yu.Yu. Byalovskiy, *DSc, Prof., Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia*

V.T. Dolgikh, *DSc, Prof., Omsk State Medical University, Omsk, Russia*

A.M. Dygay, *Acad. RAS, DSc, Prof., Tomsk National Research Medical Center of RAS, Tomsk, Russia*

D.A. Enikeev, *DSc, Prof., Bashkir State Medical University, Ufa, Russia*

V.P. Kulikov, *DSc, Prof., Altai Medical Inst. of Postgraduate Education, Barnaul, Russia*

V.P. Mikhailov, *DSc, Prof., Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia*

V.G. Ovsyannikov, *DSc, Prof., Rostov State Med. University, Rostov-na-Donu, Russia*

S.N. Orlov, *DSc, Prof., Moscow State University, Moscow, Russia*

N.N. Petrishchev, *DSc, Prof., First St.Petersburg State Med. Univ., St.Peterburg, Russia*

L.A. Severyanova, *DSc, Prof., Kursk State Medical University, Kursk, Russia*

V. Shvarz, *PhD, Prof., Saarland University, Homburg/Saar, Germany*

## СОДЕРЖАНИЕ

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Синёв В.В., Рыжкова А.И., Сазонова М.Д., Дорошук Н.А., Кириченко Т.В., Карагодин В.П., Орехов А.Н., Собенин И.А., Сазонова М.А.** Новый маркер старения человека: уровень гетероплазмы мутаций митохондриального генома ..... 4
- Гусева Е.С., Давыдов С.О., Кузник Б.И., Смоляков Ю.Н., Терешков П.П., Фефелова Е.В., Цыбиков Н.Н.** Взаимосвязь системы гемостаза с деятельностью сердечно-сосудистой системы у женщин с эссенциальной гипертензией в зависимости от методов применяемой терапии ..... 10
- Ветлугина Т.П., Прокопьева В.Д., Плотников Е.В., Ярыгина Е.Г., Лебедева В.Ф., Бохан Н.А.** Повреждение эритроцитов и макромолекул плазмы крови у больных алкоголизмом и мембранопротекторный эффект солей лития ..... 22
- Трегуб П.П., Малиновская Н.А., Куликов В.П., Кузовков Д.А.** Гиперкапния и ее сочетание с гипоксией снижают проницаемость гематоэнцефалического барьера у крыс ..... 30
- Казаков О.В., Повешченко А.Ф., Кабаков А.В., Повешченко О.В., Стрункин Д.Н., Лыков А.П., Коненков В.И.** Сравнение влияния оперативного лечения и химиотерапии на структуру тимуса при экспериментальном раке молочной железы ..... 37
- Фоменко О.Ю., Порядин Г.В., Морозов С.В., Салмаси Ж.М., Кашников В.Н., Бирюков О.М., Козлов В.А., Реутова А.А., Румянцев А.С., Белоусова С.В.** Оценка результатов консервативного лечения функциональных расстройств дефекации у пациентов с пролапсом тазовых органов ..... 44
- Труш В.В., Соболев В.И.** Модуляция альфакальцидиолом эффектов дексаметазона на параметры М-ответа скелетной мышцы белых крыс ..... 53
- Осиков М.В., [Симонян Е.В.] Бакеева А.Е., Астахова Л.В.** Морфологические аспекты протекторного действия оригинальных ректальных суппозиторий с экстрактом куркумы при экспериментальной болезни Крона ..... 67
- Михайличенко М.И., Шаповалов К.Г., Мудров В.А.** Комплексная оценка периферической иннервации и изменений колебаний микрокровотока при местной холодовой травме ..... 78
- Пономарев И.Н., Макаров М.С., Боровкова Н.В., Андреев Ю.В., Сторожева М.В., Будаев А.А.** Особенности раневого процесса при лечении поверхностных ожогов с помощью коллагеновых раневых покрытий, насыщенных тромбоцитами (экспериментальное исследование) ..... 85

### ОБЗОРЫ

- Козлов В.А., Сапожников С.П., Голенков А.В.** Эпидемиология амилоидоза (преобладание этиологического мышления) ..... 94
- Геворкян Н.М., Тишевская Н.В.** Патогенез как проблема функциональной несостоятельности и дисбаланса в популяции Т-лимфоцитов ..... 109
- Шарипова М.М.** Сравнительная эффективность физиотерапевтической и лекарственной дотации микроэлементов при репаративной регенерации кожи ..... 120

### НЕКРОЛОГ

- Памяти Бориса Борисовича Мороза** ..... 127

## CONTENTS

### ORIGINAL ARTICLES

- Sinyov V.V., Ryzhkova A.I., Sazonova M.D., Doroschuk N.A., Kirichenko T.V., Karagodin V.P., Orekhov A.N., Sobenin I.A., Sazonova M.A.** A new marker of human aging: heteroplasmy level of mitochondrial genome mutations ..... 4
- Guseva E.S., Davydov S.O., Kuznik B.I., Smolyakov Yu.N., Tereshkov P.P., Fefelova E.V., Tsybikov N.N.** Effect of moderate physical exercises on the relationship of variability of the heart rhythm with the level of blood pressure and hemodynamic functions in women with essential hypertension ..... 10
- Vetlugina T.P., Prokopieva V.D., Plotnikov E.V., Yarygina E.G., Lebedeva V.F., Bokhan N.A.** Damage of erythrocytes and blood plasma macromolecules in patients with alcoholism and the membrane-protective effect of lithium salts ..... 22
- Tregub P.P., Malinovskaya N.A., Kulikov V.P., Kuzovkov D.A.** Hypercapnia and its combination with hypoxia decrease the permeability of the blood-brain barrier in rats ..... 30
- Kazakov O.V., Poveshchenko A.F., Kabakov A.V., Poveshchenko O.V., Strunkin D.N., Lykov A.P., Konenkov V.I.** Comparing the effects of surgical treatment and chemotherapy on the thymus structure in experimental breast cancer ..... 37
- Fomenko O.Yu., Poryadin G.V., Morozov S.V., Salmasi Zh.M., Kashnikov V.N., Biryukov O.M., Kozlov V.A., Reutova A.A., Rumyantsev A.S., Belousova S.V.** The role of conservative treatment of functional defecatory disorders and further perspectives in patients with pelvic organ prolapse ..... 44
- Trush V.V., Sobolev V.I.** Alphacalcidol modulation of the dexamethazone effects on parameters of m-response of skeletal muscle of white rats ..... 53
- Osikov M.V., [Simonyan E.V.] Bakeeva A.E., Astakhova L.V.** Morphological aspects of the protective effect of newly formulated rectal suppositories with turmeric extract in experimental Crohn's disease ..... 67
- Mikhailichenko M.I., Shapovalov K.G., Mudrov V.A.** Comprehensive assessment of peripheral innervation and microcirculatory function in local cold trauma ..... 78
- Ponomarev I.N., Makarov M.S., Borovkova N.V., Andreev Yu.V., Storozheva M.V., Budaev A.A.** Reparative process in superficial burns, treated with wound cover, including collagen bands and platelets (experimental study) ..... 85

### REVIEWS

- Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Golenkov A.V.** Epidemiology of amyloidosis (prevalence of etiological thinking) ..... 94
- Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V.** Pathogenesis as a problem of functional incompetence and imbalance in the population of T-lymphocytes ..... 109
- Sharipova M.M.** Comparative efficiency of physiotherapeutic and medicinal treatment of microelements during reparative skin regeneration ..... 120

### OBITUARY

- In memory of Boris Borisovich Moroz** ..... 127

## Оригинальные статьи

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-092.18.616-092.4.575.155

Синёв В.В.<sup>1,2,5</sup>, Рыжкова А.И.<sup>1</sup>, Сазонова М.Д.<sup>1</sup>, Дорошук Н.А.<sup>1,2</sup>, Кириченко Т.В.<sup>5</sup>, Карагодин В.П.<sup>1,4</sup>, Орехов А.Н.<sup>1,3,5</sup>, Собенин И.А.<sup>1,2</sup>, Сазонова М.А.<sup>1,2</sup>

# Новый маркер старения человека: уровень гетероплазмии мутаций митохондриального генома

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»,  
125315, Москва, Россия, Балтийская ул., д. 8;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России,  
121552, Москва, Россия, 3-я Черепковская ул., д. 15а;

<sup>3</sup>Научно-исследовательский институт атеросклероза, Инновационный центр Сколково,  
121609, Московская обл., Сколково, Россия, Новая ул., д. 100;

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова»,  
117997, Москва, Россия, Стремянный переулок, д. 36;

<sup>5</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»,  
117418, Москва, Россия, ул. Цюрупы, д. 3

**Введение.** Геронтология – это наука о причинах биологического старения организма. Ее составной частью является гериатрия – наука о болезнях и факторах, вызывающих старение. Полагаем, что митохондриальные мутации, затрагивающие гены белковых субъединиц дыхательной цепи, а также транспортных и рибосомальных РНК, могут являться одним из факторов старения индивидов. При этом, согласно данным литературы, проблема связи мутаций митохондриального генома со старением индивидов изучена недостаточно. **Цель исследования** – анализ ассоциации уровня гетероплазмии мутаций мтДНК с возрастом индивидов.

**Методика.** Объектом исследования была выборка жителей Московского региона состоящая из 712 участников. ДНК выделяли из образцов лейкоцитов крови участников исследования с помощью метода фенол-хлороформной экстракции. Была проведена ПЦР фрагментов ДНК, содержащих область исследованных мутаций. Полученные амплификаты были пиросеквенированы. Анализ уровня гетероплазмии данных мутаций был проведен с помощью количественного метода, разработанного авторами статьи. Для подсчета уровня гетероплазмии мутаций по данным пирограммы использовалась ранее разработанная авторами формула.

**Результаты.** Показано, что с возрастом индивидов положительно коррелируют однонуклеотидные замены митохондриального генома  $m.12315G>A$ ,  $m.14459G>A$  и  $m.15059G>A$  ( $p \leq 0,05$ ) и отрицательно –  $m.1555A>G$  и  $m.14846G>A$  ( $p \leq 0,05$ ). Мутации  $m.652insG$  и  $m.13513G>A$  отрицательно коррелируют с возрастом на уровне значимости  $p \leq 0,1$ .

**Заключение.** Обнаружены 3 однонуклеотидные замены  $m.14459G>A$ ,  $m.15059G>A$  и  $m.12315G>A$  генов *MT-ND6*, *MT-CYTB* и *MT-TL2* (соответственно) ассоциированные со старением организма человека. Данные мутации могут быть использованы для создания молекулярно-клеточных моделей старения. В то же время, выявлены мутации  $m.1555A>G$ ,  $m.652insG$  (ген *MT-RNR1*),  $m.14846G>A$  (ген *CYTB*) и  $m.13513G>A$  (ген *MT-ND5*), отрицательно коррелирующие с возрастом индивидов. Данные мутации могут быть использованы при генотерапии для замедления старения людей.

**Ключевые слова:** митохондриальный геном; мутация; ген; мтДНК; возраст; лейкоциты крови; старение; пиросеквенирование

**Для цитирования:** Синёв В.В., Рыжкова А.И., Сазонова М.Д., Дорошук Н.А., Кириченко Т.В., Карагодин В.П., Орехов А.Н., Собенин И.А., Сазонова М.А. Новый маркер старения человека: уровень гетероплазмии мутаций митохондриального генома. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2021; 65(2): 4-9.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.4-9

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Синёв В.В., Сазонова М.А.; методология – Сазонова М.А.; сбор и обработка материала – Синёв В.В., Сазонова М.А., Рыжкова А.И., Сазонова М.Д., Дорошук Н.А., Кириченко Т.В.; написание текста – Синёв В.В., Сазонова М.А.; статистическая обработка материала – Синёв В.В., Сазонова М.А.; редактирование – Сазонова М.А., Карагодин В.П., Орехов А.Н., Собенин И.А.

**Для корреспонденции:** Сазонова Маргарита Александровна, e-mail: margaritaasazonova@gmail.com

**Финансирование.** Работа поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований (грант №19-015-00479).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 07.10.2020

Принята в печать 25.03.2021

Опубликована 30.06.2021

Sinyov V.V.<sup>1,2</sup>, Ryzhkova A.I.<sup>1</sup>, Sazonova M.D.<sup>1</sup>, Doroschuk N.A.<sup>1,2</sup>, Kirichenko T.V.<sup>5</sup>, Karagodin V.P.<sup>1,4</sup>, Orekhov A.N.<sup>1,3,5</sup>, Sobenin I.A.<sup>1,2</sup>, Sazonova M.A.<sup>1,2</sup>

## A new marker of human aging: heteroplasmy level of mitochondrial genome mutations

<sup>1</sup>Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltiyskaya St. 8, Moscow 125315, Russian Federation;

<sup>2</sup>National Medical Research Center of Cardiology, 3rd Cherepkovskaya St. 15a, Moscow 121552, Russian Federation;

<sup>3</sup>Institute for Atherosclerosis Research, Skolkovo Innovative Centre, Novaya St. 100, Moscow Region, Skolkovo 121609, Russian Federation;

<sup>4</sup>G.V. Plekhanov Russian University of Economics, Stremyanny Pereulok 36, Moscow 117997, Russian Federation;

<sup>5</sup>Institute of Human Morphology, Tsurupy St. 3, Moscow 117418, Russian Federation

**Introduction.** Gerontology is a branch of science that focuses on the causes of biological aging. Its clinical component is geriatrics, a branch of medical science that focuses on diseases and factors causing aging. We hypothesize that mitochondrial mutations that affect genes of protein subunits of the respiratory chain, and, also, transport and ribosomal RNAs may be factors of aging. Meanwhile, according to the literature, the connection of mitochondrial genome mutations with aging has not been adequately studied. **Aim.** To analyze the association of heteroplasmy level in mtDNA mutations with the age of individuals.

**Methods.** A sample of inhabitants of the Moscow region, composed of 712 study participants, was enrolled in the study. DNA was isolated from blood leukocytes by phenol chloroform extraction, and PCR of DNA fragments, containing the region of the studied mutations was performed. The obtained amplicates were pyrosequenced. These mutations were analyzed for the heteroplasmy level using a quantitative method developed by the authors. To determine the heteroplasmy level of mutations from the pyrogram data, a formula was used that had earlier been developed by the authors. The results were statistically analyzed with the software package, IBM SPSS Statistics, version 27.0 (SPSS Inc., USA).

**Results.** Analysis of mutations showed that single nucleotide substitutions of the mitochondrial genomes m.12315G>A, m.14459G>A and m.15059G>A correlated positively with subject age ( $p \leq 0.05$ ) whereas m.1555A>G and m.14846G>A correlated negatively ( $p \leq 0.05$ ). Mutations m.652insG and m.13513G>A tended to correlate negatively with aging ( $p \leq 0.1$ ).

**Conclusion.** Three single nucleotide substitutions were found: m.14459G>A, m.15059G>A, and m.12315G>A of genes MT-ND6, MT-CYTB, and MT-TL2, respectively, that are associated with human aging. Thus, these mutations may be used for creating molecular cellular models of aging. At the same time, mutations m.1555A>G, m.652insG (gene MT-RNR1), m.14846G>A (gene CYTB), and m.13513G>A (gene MT-ND5) were detected, which correlate with aging negatively. These mutations may be used in gene therapy to slow aging.

**Keywords:** mitochondrial genome; mutation; gene; mtDNA; age; blood leukocytes; aging; pyrosequencing

**For citation:** Sinyov V.V., Ryzhkova A.I., Sazonova M.D., Doroschuk N.A., Kirichenko T.V., Karagodin V.P., Orekhov A.N., Sobenin I.A., Sazonova M.A. A new marker of human aging: heteroplasmy level of mitochondrial genome mutations. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(2): 4-9. (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.4-9

**For correspondence:** Sazonova M.A., e-mail: margaritaasazonova@gmail.com

**Contribution:** study concept and design – Sinyov V.V., Sazonova M.A.; metodologiya – Sazonova M.A.; collection and treatment of materials – Sinyov V.V., Ryzhkova A.I., Sazonova M.D., Doroschuk N.A., Kirichenko T.V., Sazonova M.A.; statistics – Sinyov V.V., Sazonova M.A.; text writing – Sinyov V.V., Sazonova M.A.; editing – Sazonova M.A., Karagodin V.P., Orekhov A.N., Sobenin I.A.

**Acknowledgment.** This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant # 19-015-00479).

**Conflict of interest.** The authors declare that there is no conflict of interest.

### Information about the authors:

Sinyov V.V., <https://orcid.org/0000-0001-5105-5763>

Ryzhkova A.I., <https://orcid.org/0000-0002-8838-7750>

Sazonova M.D., <https://orcid.org/0000-0002-9452-1282>

Doroschuk N.A., <https://orcid.org/0000-0003-2258-6463>

Kirichenko T.V., <https://orcid.org/0000-0002-2899-9202>

Karagodin V.P., [вед. https://orcid.org/0000-0003-0501-8499](https://orcid.org/0000-0003-0501-8499)

Orekhov A.N., <https://orcid.org/0000-0002-6495-1628>

Sobenin I.A., <https://orcid.org/0000-0003-0978-6444>

Sazonova M.A., <http://orcid.org/0000-0002-8610-4593>

Received 07.10.2020

Accepted 25.03.2021

Published 30.06.2021

## Введение

Геронтология — это наука о причинах биологического старения организма [1-5]. Ее составной частью является гериатрия — наука о болезнях и факторах, вызыва-

ющих старение [6-10]. Полагаем, что митохондриальные мутации, затрагивающие гены белковых субъединиц дыхательной цепи, а также транспортных и рибосомальных

РНК, могут также являться факторами старения индивидов [11-14]. При этом, согласно данным литературы, проблема связи мутаций митохондриального генома со старением индивидов изучена недостаточно.

Мутации митохондриального генома ассоциированы с различными патологиями, в том числе мультифакториальными [15-18]. Данные мутации могут иметь наследственную природу или возникнуть в течении жизни индивида [19-22]. Пенетрантность таких мутаций зависит от их уровня гетероплазмии в клетках и тканях организма [23-26].

**Цель работы** – анализ ассоциации уровня гетероплазмии мутаций мтДНК с возрастом индивидов.

### Методика

Материалом для исследований служили лейкоциты образцов крови 712 участников исследования из Московского региона.

Тотальная ДНК была выделена методом фенол-хлороформной экстракции [21, 26-29]. ПЦР фрагментов, содержащих область исследованных 11 мутаций митохондриального генома (m.652delG, m.652insG, m.1555A>G, m.3256 C>T, m.3336T>C, m.5178C>A, m.12315G>A, m.13513G>A, m.14459G>A, m.14846G>A, m.15059G>A), осуществляли с праймерами, приведенными в **табл. 1** [10, 21, 22, 25, 26]. ПЦР была проведена на амплификаторе «PTC DNA Engine 200» (**табл. 2**) [10, 21, 22, 25, 26]. Пиросеквенирование амплификатов проводили на автоматическом пиросеквенаторе PSQTMHS96MA. Используемые для этого праймеры представлены в **табл. 3**.

Анализ уровня гетероплазмии данных мутаций был проведен с помощью количественного метода, разработанного авторами статьи [21, 22, 25, 26, 30]. Для подсчета уровня гетероплазмии мутаций по данным программы использовалась ранее разработанная авторами статьи формула [21, 22, 25, 26, 30]:

$$P = \frac{|h-N|}{|M-N|} \cdot 100\%$$

P – процент гетероплазмии;

h – высота пика исследуемого нуклеотида;

N – высота пика исследуемого нуклеотида, соответствующая наличию в образце 100% нормальных аллелей;

M – высота пика исследуемого нуклеотида, соответствующая наличию в образце 100% мутантных аллелей.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics версии 27.0 (SPSS Inc., США).

### Результаты и обсуждение

Согласно полученным данным (**табл. 4**), с возрастом индивидов положительно коррелируют однонуклеотидные замены митохондриального генома m.12315G>A, m.14459G>A и m.15059G>A ( $p \leq 0,05$ ) и отрицательно – m.1555A>G и m.14846G>A ( $p \leq 0,05$ ). Мутации m.652insG и m.13513G>A отрицательно коррелируют с возрастом на уровне значимости  $p \leq 0,1$ .

Результаты настоящего исследования позволяют предположить, что мутации m.14459G>A, m.15059G>A

Таблица 1

### Праймеры для ПЦР

Мутации	Прямой праймер	Обратный праймер
m.652delG	TAGACGGGCTCACATCAC (621 – 638)	bio-GGGGTATCTAATCCCAGTTTG GGT (1087 – 1064)
m.12315G>A	bio-CTCATGCCCCCATGT CТАА (12230 – 12249)	TTACTTTTATTTGAGTTGCAC (12337 – 12317)
m.14846G>A	bio-CATTATTCTCGCACG GACT (14671 – 14689)	GCTATAGTTGCAAGCAGGAG (15120 – 15100)
m.1555A>G	TAGGTCAAGGTGTAGCCCATGAGGTGGCAA (1326 – 1355)	bio-GTAAGGTGGAGTGGGTTTGGG (1704 – 1684)
m.15059G>A	bio-CATTATTCTCGCACG GACT (14671 – 14689)	GCTATAGTTGCAAGCAGGAG (15120 – 15100)
m.3256C>T	bio-AGGACAAGAGAAATA AGGCC (3129 – 3149)	ACGTTGGGGCCTTTGCGTAG (3422 – 3403)
m.652insG	TAGACGGGCTCACATCAC (621 – 638)	bio-GGGGTATCTAATCCCAGTTTG GGT (1087 – 1064)
m.3336T>C	bio-AGGACAAGAGAAATA AGGCC (3129 – 3149)	ACGTTGGGGCCTTTGCGTAG (3422 – 3403)
m.13513G>A	CCTCACAGGTTTCTACTCCAAA (13491 – 13512)	bio-AAGTCCTAGGAAAGTGACAG CGAGG(13825 – 13806)
m.5178C>A	bio-AGGACAAGAGAAATA AGGCC (3129 – 3149)	ACGTTGGGGCCTTTGCGTAG (3422 – 3403)
m.14459G>A	CAGCTTCCTACACTATTAAGT (14303 – 14334)	bio-GTTTTTTTAATTTATTAGGG GG (14511 – 14489)

Таблица 2

## Режим ПЦР и размер амплификатов

Мутация	Размер амплификата	Концентрация хлорида магния в ПЦР-буфере	Денатурация	Отжиг	Синтез
m.5178C>A	383 п.н.	2,5 мМ	94°	60°	72°
m.3256C>T	294 п.н.	2,5 мМ	94°	55°	72°
m.652delG	467 п.н.	2,5 мМ	94°	60°	72°
m.3336T>C	294 п.н.	2,5 мМ	94°	55°	72°
m.14846G>A	450 п.н.	1,5 мМ	94°	55°	72°
m.13513G>A	335 п.н.	1,5 мМ	94°	55°	72°
m.652insG	467 п.н.	2,5 мМ	94°	60°	72°
m.15059G>A	450 п.н.	1,5 мМ	94°	55°	72°
m.12315G>A	108 п.н.	2,5 мМ	94°	50°	72°
m.1555A>G	379 п.н.	2,5 мМ	94°	50°	72°
m.14459G>A	209 п.н.	1,5 мМ	94°	50°	72°

Таблица 3

## Праймеры для пиросиквенса

Мутации мтДНК	Праймер для сиквенса
m.3256C>T	AAGAAGAGGAATTGA (3300 - 3286)
m.652delG	CCCATAAACAATA (639 - 651)
m.5178C>A	ATTAAGGGTGTTAGTCATGT (5200 - 5181)
m.1555A>G	ACGCATTTATATAGAGGA (1537 - 1554)
m.652insG	CCCATAAACAATA (639 - 651)
m.12315G>A	TTTGGAGTTGCAC (12328 - 12316)
m.3336T>C	TGCGATTAGAATGGGTAC (3354 - 3337)
m.14459G>A	GATACTCCTCAATAGCCA (14439 - 14456)
m.15059G>A	TTTCTGAGTAGAGAAATGAT (15080-15061)
m.13513G>A	AGGTTTCTACTCAA (13497 - 13511)
m.14846G>A	GCGCCAAGGAGTGA (14861- 14848)

Таблица 4

## Корреляция мутаций мтДНК с возрастом людей

Ген	Мутация	Коэффициент корреляции	Уровень значимости
MT-TL1	m.3256 C>T	0,062	0,439
MT-RNR1	m.652delG	0,101	0,203
MT-ND1	m.3336T>C	0,108	0,198
MT-ND2	m.5178C>A	0,016	0,861
MT-RNR1	m.652insG	-0,128	0,100*
MT-TL2	m.12315G>A	0,279	0,001**
MT-RNR1	m.1555A>G	-0,176	0,027**
MT-CYTB	m.15059G>A	0,188	0,018**
MT-ND5	m.13513G>A	-0,128	0,101*
MT-CYTB	m.14846G>A	-0,177	0,032**
MT-ND6	m.14459G>A	0,165	0,043**

Примечание. \*\* –  $p < 0,05$ ; \* –  $p < 0,1$ .

и m.12315G>A генов MT-ND6, MT-CYTB и MT-TL2 (соответственно) способствуют старению организма человека. Это наводит на мысль, что дефекты белковых субъединиц ферментов дыхательной цепи приводят к дисфункции митохондрий, включая механизмы апоптоза клеток и вызывая старение тканей и всего организма. Данные мутации могут быть использованы для создания молекулярно-клеточных моделей старения. В то же время мутации m.1555A>G и m.652insG (ген *MT-RNR1*), m.14846G>A (ген *CYTB*) и m.13513G>A (ген *MT-ND5*) могут быть использованы при генотерапии для замедления старения, так как отрицательная корреляция их с возрастом индивидов может быть связана со стабилизирующим действием на рибосомы и ферменты дыхательных цепей митохондрий.

### Заключение

В настоящем исследовании обнаружены однонуклеотидные замены m.14459G>A, m.15059G>A и m.12315G>A генов MT-ND6, MT-CYTB и MT-TL2 (соответственно), ассоциированные со старением организма человека. В то же время, выявлены мутации m.1555A>G, m.652insG (ген *MT-RNR1*), m.14846G>A (ген *CYTB*) и m.13513G>A (ген *MT-ND5*), отрицательно коррелирующие с возрастом индивидов. Данные мутации могут быть использованы при генотерапии для замедления старения людей.

Работа может быть полезна исследователям, специализирующимся в области геронтологии.

### Литература

(п.п. 1-8; 10-13; 15-17; 19-21; 23; 24; 26; 27; 30 см. References)

9. Иванова М.М., Бородачев Е.Н., Сазонова М.А. Заболевания человека, ассоциированные с мутациями митохондриального генома. *Пат. физиол. и эксперим. тер.* 2012; 3:115-22. PMID: 23072123
14. Желанкин А.В., Сазонова М.А. Ассоциация мутаций митохондриального генома человека с хроническими заболеваниями невоспалительного генеза: сахарным диабетом 2 типа, артериальной гипертонией и различными видами кардиомиопатии. *Пат. физиол. и эксперим. тер.* 2012; 3: 124-9. PMID: 23072124
18. Митрофанов К.Ю., Сазонова М.А. Ассоциация точковых мутаций ядерного и митохондриального геномов человека с ишемической болезнью сердца. *Пат. физиол. и эксперим. тер.* 2012; 2: 51-6. PMID: 22708410
22. Сазонова М.А. Ассоциация мутаций митохондриального генома с липофиброзными бляшками интимы аорты человека. *Пат. физиол. и эксперим. тер.* 2015; 1: 17-32. PMID: 26226685
25. Сазонова М.А., Постнов А.Ю., Орехов А.Н., Собенин И.А. Новый метод количественной оценки мутантного аллеля митохондриального генома. *Пат. физиол. и эксперим. тер.* 2011; 4:81-84. PMID: 22359940
28. Амосенко Ф.А., Трубникова И.С., Захарьев В.М., Банников В.М., Сазонова М.А., Петрова Н.В. и др. Полиморфизм TUB9 в гене TPBM больных муковисцидозом, носителей и здоровых доноров Московского региона. SSCP анализ и рестрикционный анализ. *Генетика.* 1997; 33(2): 257- 261. PMID: 9162703
29. Сазонова М.А., Амосенко Ф.А., Капранов Н.И., Калинин В.Н. Молекулярно- генетический анализ внутригенных полиморфизмов TUB18 и TUB20 и некоторых мутаций гена TPBM в Московском регионе. *Генетика.* 1997; 33(9): 1303-7. PMID: 9445824

### References

1. Ekerdt D.J. Gerontology in Five Images. *Gerontologist.* 2016; Apr.; 56(2): 184-92. <https://doi.org/10.1093/geront/gnu077>
2. Brinkley T.E., Berger M., Callahan K.E., Fieo R.A., Jennings L.A., Morris J.K., et al. Workshop on Synergies Between Alzheimer’s Research and Clinical Gerontology and Geriatrics: Current Status and Future Directions. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2018; Aug.10; 73(9): 1229-37. <https://doi.org/10.1093/gerona/gly041>
3. Robert L., Labat-Robert J. Comments on the history of medical-biological studies of aging, the birth of scientific gerontology. *Curr. Res. Transl. Med.* Jan.-Mar. 2017; 65(1): 44-7. <https://doi.org/10.1016/j.retram.2016.08.004>
4. Sazonova M.A., Sinyov V.V., Ryzhkova A.I., Barinova V.A., Zhelankin A.V., Mitrofanov K.Y., et al. Atherosclerosis and ageing: common mutations of mitochondrial genome. *Atherosclerosis.* 2015; 241(1): e228. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.04.1063>
5. Sazonova M., Andrianova I., Khasanova Z., Sobenin I., Postnov A. Quantitative mitochondrial genome mutation investigation and possible role of the somatic mutations in development of atherosclerotic lesion of human aorta. *Atherosclerosis Suppl.* 2008; 9(1): 113. [https://doi.org/10.1016/S1567-5688\(08\)70454-9](https://doi.org/10.1016/S1567-5688(08)70454-9)
6. Kahn J.H., Magauran B.G. Jr., Olshaker J.S., Shankar K.N. Current Trends in Geriatric Emergency Medicine. *Emerg. Med. Clin. North. Am.* 2016; Aug.; 34(3): 435-52. <https://doi.org/10.1016/j.emc.2016.04.014>
7. Voumard R., Rubli Truchard E., Benaroyo L., Borasio G.D., Büla C., Jox R.J. Geriatric palliative care: a view of its concept, challenges and strategies. *BMC Geriatr.* 2018; Sep’ 20; 18(1): 220. <https://doi.org/10.1186/s12877-018-0914-0>
8. Sazonova M.A., Shkurat T.P., Demakova N.A., Zhelankin A.V., Barinova V.A., Sobenin I.A., et al. Mitochondrial genome sequencing in atherosclerosis: what’s next? *Curr. Pharm. Des.* 2016; 22(3): 390-6. <https://doi.org/10.2174/1381612822666151112152335>
9. Ivanova M.M., Borodachev E.N., Sazonova M.A. Human pathologies associated with mutations of mitochondrial genome. *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.* 2012; (3): 115-22. (in Russian) PMID: 23072123
10. Sazonova M.A., Chicheva M.M., Zhelankin A.V., Sobenin I.A., Bobryshev Y.V., Orekhov A.N. Association of mutations in the mitochondrial genome with the subclinical carotid atherosclerosis in women. *Exp. Mol. Pathol.* 2015; Apr. 21; 99(1): 25-32. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2015.04.003>
11. Sahu A., Mamiya H., Shinde S.N., Cheikhi A., Winter L.L., Vo N.V., et al. Age-related declines in α-Klotho drive progenitor cell mitochondrial dysfunction and impaired muscle regeneration. *Nat. Commun.* 2018; 9(1): 4859. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07253-3>
12. Picca A., Lezza A.M.S., Leeuwenburgh C., Pesce V., Calvani R., Bossola M., et al. Circulating Mitochondrial DNA at the Crossroads of Mitochondrial Dysfunction and Inflammation During Aging and Muscle Wasting Disorders. *Rejuvenation Res.* 2018; 21(4): 350-9. <https://doi.org/10.1089/rej.2017.1989>



13. Ryzhkova A.I., Sazonova M.A., Sinyov V.V., Galitsyna E.V., Chicheva M.M., Melnichenko A.A., et al. Mitochondrial diseases caused by mtDNA mutations: a mini-review. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2018; 14: 1933-42. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S154863>
14. Zhelankin A.V., Sazonova M.A. Association of the mutations in the human mitochondrial genome with chronic non-inflammatory diseases: type 2 diabetes, hypertension and different types of cardiomyopathy. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2012; 3: 123-8. (in Russian) PMID: 23072124
15. Sazonova M.A., Ryzhkova A.I., Sinyov V.V., Galitsyna E.V., Melnichenko A.A., Demakova N.A., Sobenin I.A., Shkurat T.P., Orekhov A.N. Mitochondrial Genome Mutations Associated with Myocardial Infarction. *Dis. Markers*. 2018; Feb. 18; 2018:9749457. <https://doi.org/10.1155/2018/9749457>
16. Sazonova M.A., Ryzhkova A.I., Sinyov V.V., Sazonova M.D., Nikitina N.A., Shkurat T.P., et al. Mitochondrial mutations associated with cardiac angina. *Vessel Plus*. 2019; 3: 8. <https://doi.org/10.20517/2574-1209.2019.01>
17. Sazonova M.A., Sinyov V.V., Ryzhkova A.I., Sazonova M.D., Khasanova Z.B., Sobenin I.A. MtDNA mutations linked with left ventricular hypertrophy. *Vessel Plus*. 2019; 3: 5 <https://doi.org/10.20517/2574-1209.2018.56>
18. Mitrofanov K.Yu., Sazonova M.A. Association of point mutations in human nuclear and mitochondrial genome with coronary artery disease. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2012; 2: 51-5. (in Russian) PMID: 22708410
19. Malik A.N., Rosa H.S., de Menezes E.S., Tamang P., Hamid Z., Naik A., et al. The Detection and Partial Localisation of Heteroplasmic Mutations in the Mitochondrial Genome of Patients with Diabetic Retinopathy. *Int. J. Mol. Sci*. 2019. Dec. 11; 20(24): 6259. <https://doi.org/10.3390/ijms20246259>
20. Schon E.A., DiMauro S., Hirano M. Human mitochondrial DNA: roles of inherited and somatic mutations. *Nat. Rev. Genet*. 2012; 13(12): 878-90. <https://doi.org/10.1038/nrg3275>
21. Sazonova M.A., Sinyov V.V., Ryzhkova A.I., Galitsyna E.V., Khasanova Z.B., Postnov A.Y., et al. Role of Mitochondrial Genome Mutations in Pathogenesis of Carotid Atherosclerosis. *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2017; 2017: 6934394. <https://doi.org/10.1155/2017/6934394>
22. Sazonova M.A. Association of mitochondrial genome mutations with lipofibrous plaques in human aortic intima. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2015; 59(1): 17-28. (in Russian) PMID: 26226685
23. Grady J.P., Pickett S.J., Ng Y.S., Alston C.L., Blakely E.L., Hardy S.A., et al. mtDNA heteroplasmy level and copy number indicate disease burden in m.3243A>G mitochondrial disease. *EMBO Mol. Med*. 2018. 10(6):e8262. <https://doi.org/10.15252/emmm.201708262>
24. Pereira C.V., Moraes C.T. Current strategies towards therapeutic manipulation of mtDNA heteroplasmy. *Front. Biosci. (Landmark Ed)*. 2017; 22: 991-1010. <https://doi.org/10.2741/4529>
25. Sazonova M.A., Postnov A.Yu., Orekhov A.N., Sobenin I.A. A new method of quantitative estimation of mutant allele in mitochondrial genome. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2011; 4: 81-4. (in Russian) PMID: 22359940
26. Sazonova M.A., Ryzhkova A.I., Sinyov V.V., Galitsyna E.V., Orekhova V.A., Melnichenko A.A., et al. New markers of atherosclerosis: a threshold level of heteroplasmy in mtDNA mutations. *Vessel Plus*. 2017; 1: 182-91. <https://doi.org/10.20517/2574-1209.2017.16>
27. Amosenko F.A., Sazonova M.A., Kapranov N.I., Trubnikova I.S., Kalinin V.N. Analysis of various polymorphic markers of the CFTR gene in cystic fibrosis patients and healthy donors from the Moscow region. *Russ. J. Genet*. 1995; 31(4): 457-9.
28. Amosenko F.A., Trubnikova I.S., Zakhar'ev V.M., Bannikov V.M., Sazonova M.A., Petrova N.V., et al. TUB9 polymorphism in the CFTR gene of cystic fibrosis patients, carriers, and healthy donors from the Moscow region. SSCP and restriction analyses. *Genetika*. 1997; 33(2): 257-61. (in Russian) PMID: 9162703
29. Sazonova M.A., Amosenko F.A., Kapranov N.I., Kalinin V.N. Molecular genetic analysis of TUB18 and TUB20 intragenic polymorphism and various mutations of the CFTR gene in the Moscow region. *Genetika*. 1997; 33(9): 1303-7. (in Russian) PMID: 9445824
30. Postnov A.Y., Sazonova M.A., Budnikov Y.Y., Khazanova Z.B., Sobenin I.A., Orekhov AN. Association of somatic mitochondrial mutations with atherosclerosis. *Atherosclerosis Suppl*. 2007; 8(1): 46. [https://doi.org/10.1016/S1567-5688\(07\)71126-1](https://doi.org/10.1016/S1567-5688(07)71126-1)

**Сведения об авторах:**

**Синёв Василий Владимирович**, мл. науч. сотр. лаб. медицинской генетики ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России, ст. лаборант с в/о лаб. ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП;

**Рыжкова Анастасия Игоревна**, мл. науч. сотр. лаб. ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП;

**Сазонова Марина Дмитриевна**, ст. лаборант с в/о лаб. ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП;

**Дорожук Наталья Александровна**, науч. сотр. лаб. медицинской генетики ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России, мл. науч. сотр. лаб. ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП, канд. мед. наук;

**Кириченко Татьяна Валерьевна**, ст. науч. сотр. лаб. клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы, сотр. ФГБНУ «НИИ морфологии человека», канд. биол. наук;

**Карагодин Василий Петрович**, вед. науч. сотр. лаб. ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП, ФГБОУ ВО «Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова», доктор биол. наук;

**Орехов Александр Николаевич**, зав. лаб. ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП, вед. науч. сотр. лаб. клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы ФГБНУ «НИИ морфологии человека», директор «НИИ атеросклероза» Инновационного центра Сколково, доктор биол. наук;

**Собенин Игорь Александрович**, зав. лаб. медицинской генетики ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России, вед. науч. сотр. лаб. ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП, доктор мед. наук;

**Сазонова Маргарита Александровна**, вед. науч. сотр. лаб. ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП, ст. науч. сотр. лаб. медицинской генетики ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России, канд. биол. наук, e-mail: margaritaasazonova@gmail.com

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616.12-008.331.1

Гусева Е.С.<sup>2</sup>, Давыдов С.О.<sup>1,2</sup>, Кузник Б.И.<sup>1,2</sup>, Смоляков Ю.Н.<sup>1,2</sup>, Терешков П.П.<sup>1</sup>, Фефелова Е.В.<sup>1</sup>, Цыбикив Н.Н.<sup>1</sup>

## Взаимосвязь системы гемостаза с деятельностью сердечно-сосудистой системы у женщин с эссенциальной гипертензией в зависимости от методов применяемой терапии

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия»,

672000, Чита, Россия, ул. Горького, д. 39а;

<sup>2</sup>Инновационная клиника «Академия здоровья»,

672038, Чита, Россия, ул. Коханского, д. 13

**Цель исследования** – изучение взаимосвязи между вариабельностью сердечного ритма (ВСР) системой гемостаза и гемодинамическими функциями у женщин больных эссенциальной гипертензией (ГБ) в зависимости от методов применяемой терапии. **Методика.** Под наблюдением находились 72 женщины, страдающие гипертонической болезнью. Обследовано 2 группы пациенток: 1-я группа (ГБ-1) находилась на медикаментозной терапии, 2-я (ГБ-2) – наряду с медикаментозной терапией регулярно на протяжении 2-3 лет проходила не менее 3 полутромбических курсов кинезитерапии. Для изучения гемодинамики был использован датчик динамического рассеяния света (miniature Dynamic Light Scattering – mDLS) от Elfi-Tech (Rehovot, Israel), измеряющий сигналы, инициированные кожным кровотоком и использующий методику разложения сигнала на частотные компоненты, связанные с разными гемодинамическими источниками. Из пульсовой компоненты mDLS сигнала извлекалась информация о вариабельности RR интервалов, и рассчитывались индикаторы вариабельности сердечного ритма. Изучали показатели свёртывающей системы крови: активированное парциальное тромбопластиновое время – (АПТВ), протромбиновое время (ПТВ) с вычислением МНО, тромбиновое время (ТВ), концентрация фибриногена, факторов II (протромбин), III (тромбин), IX и X [10]. Кроме перечисленных методов исследования определялся пространственный рост фибринового сгустка, осуществляемый с помощью прибора «Регистратор Тромбодинамики Т-2». Достоинством способа является его объективность и то, что программой предусмотрена фоторегистрация роста сгустка через 5, 15 и 30 мин. **Результаты.** Как в группе ГБ-1, так и ГБ-2 выявлены многочисленные корреляционные связи между различными показателями ВСР, системы гемостаза и гемодинамических. Данные представленные в виде матрицы свидетельствуют о том, что сдвиги в системе гемостаза и гемодинамики у больных ГБ-1, обусловленные деятельностью сердца и осуществляемые при участии как симпатического, так и парасимпатического отделов АНС способствуют возникновению тромботических осложнений. В то же время у больных ГБ-2 ВСР практически не коррелирует с показателями системы гемостаза и в меньшей степени связана с гемодинамическими функциями, благодаря чему состояние гемостаза и гемодинамики приближается к показателям здоровых женщин. Между тем, выявленные взаимосвязи между системой гемостаза и гемодинамическими функциями как у больных ГБ-1, так и ГБ-2 направлены на предотвращение внутрисосудистого свёртывания крови.

**Заключение.** Применение систематической умеренной физической нагрузки на протяжении 2 – 3 лет способствует нормализации взаимоотношений между ВСР, системой гемостаза и гемодинамическими функциями у больных ГБ и способствует более устойчивой нормализации кровяного давления.

**Ключевые слова:** гипертоническая болезнь; кинезитерапия; вариабельность сердечного ритма; гемостаз; гемодинамика

**Для цитирования:** Гусева Е.С., Давыдов С.О., Кузник Б.И., Смоляков Ю.Н., Терешков П.П., Фефелова Е.В., Цыбикив Н.Н. Взаимосвязь системы гемостаза с деятельностью сердечно-сосудистой системы у женщин с эссенциальной гипертензией в зависимости от методов применяемой терапии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(2): 10-21.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.10-21

**Для корреспонденции:** Кузник Борис Ильич, e-mail: bi\_kuznik@mail.ru**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Кузник Б.И., Гусева Е.С., Давыдов С.О.; сбор и обработка материала – Гусева Е.С.; статистическая обработка – Смоляков Ю.Н.; написание текста – Кузник Б.И.; редактирование – Кузник Б.И., Смоляков Ю.Н., Терешков П.П., Фефелова Е.В., Цыбикив Н.Н.**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 20.11.2020

Принята к печати 25.03.2021

Опубликована 30.06.2021

Guseva E.S.<sup>2</sup>, Davydov S.O.<sup>1,2</sup>, Kuznik B.I.<sup>1,2</sup>, Smolyakov Yu.N.<sup>1,2</sup>, Tereshkov P.P.<sup>1</sup>, Fefelova E.V.<sup>1</sup>, Tsybikov N.N.<sup>1</sup>

## Relationship of the hemostatic system with the activity of the cardiovascular system in women with essential hypertension depending on the methods of applied therapy

<sup>1</sup>Chita State Medical Academy,

Gorkogo St. 39a, Chita 672000, Russian Federation;

<sup>2</sup>Innovative Clinic Academy of Health,

Kokhanskogo St. 13, Chita 672038, Russian Federation

**Aim.** To study the relationship between heart rate variability (HRV), hemostasis, and hemodynamic functions in women with essential hypertension (EH), depending on the method of therapy.

**Methods.** 72 women with hypertension were monitored. Two patient groups were evaluated: the first group (EH-1) had received only drug therapy and the second group (EH-2), in addition to drug therapy, had regularly participated in at least three 1.5 mos long courses of kinesitherapy over a 2-3 years period. To study hemodynamics, we used a miniature Dynamic Light Scattering (mDLS) sensor from Elfi-Tech (Rehovot, Israel), which measures signals initiated by skin blood flow and uses a technique for decomposing the signal into frequency components associated with different hemodynamic sources. Information on the variability of RR intervals was extracted from the pulse component of the mDLS signal, and parameters of heart rate variability were calculated. Indexes of the coagulation system were studied, including activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PTT) with calculation of INR, thrombin time (TT), concentrations of fibrinogen and factors II (prothrombin), IIIa (thrombin), IX, and X [10]. In addition, spatial fibrin clot growth was determined with a Thrombodynamics Registrator T-2 apparatus. The method benefits are its objectivity and a possibility of photorecording of the clot growth at 5, 15 and 30 min.

**Results.** Both in the EH-1 and EH-2 groups, numerous correlations were detected between various parameters of HRV, the hemostatic system, and hemodynamic functions, as well as between the parameters of the hemostatic system and hemodynamic functions. The data are presented in the form of a matrix. The data indicate that shifts in the hemostatic and hemodynamic systems of EH-1 patients induced by cardiac activity and resulting from activities of both the sympathetic and parasympathetic sections of the autonomic nervous system (ANS) are aimed at enhancing the hemostatic properties of blood, and this contributes to thrombotic complications. At the same time, in EH-2 patients, HRV had practically no effect on the hemostatic system and to a lesser extent was related with the hemodynamic function. Due to this, the state of hemostasis and hemodynamics in EH-2 patients approaches the state found in healthy women. In addition, the relationship between the hemostatic system and hemodynamic function in both EH-1 and EH-2 patients are aimed at preventing intravascular coagulation.

**Conclusion.** The use of systematic, moderate physical activity for 2 to 3 years helps hypertensive patients to normalize the relationship between HRV, the hemostatic system, and hemodynamic functions. This contributes to a more normal and stable blood pressure.

**Keywords:** essential hypertension; kinesitherapy; heart rate variability; hemostasis; hemodynamics

**For citation:** Guseva E.S., Davydov S.O., Kuznik B.I., Smolyakov Yu.N., Tereshkov P.P., Fefelova E.V., Tsybikov N.N. Effect of moderate physical exercises on the relationship of variability of the heart rhythm with the level of blood pressure and hemodynamic functions in women with essential hypertension. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(2): -. (in Russian).

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2021.02.10-21

**For correspondence:** Kuznik Boris Ilyich, MD, Professor of the Department of Normal Physiology, Chita State Medical Academy, e-mail: bi\_kuznik@mail.ru

**Contribution:** concept and design of the study – Kuznik B.I.; Guseva E.S., Davydov S.O.; collection and processing of the material – Guseva E.S.; statistical processing – Smolyakov Yu.N.; writing the text – Kuznik B.I.; editing – Kuznik B.I., Smolyakov Yu.N., Tereshkov P.P., Fefelova E.V., Tsybikov N.N.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

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

### Information about the authors:

Guseva E.S., <https://orcid.org/0000-0001-6212-6571>

Davydov S.O., <https://orcid.org/0000-0001-6690-7391>

Kuznik B.I., <https://orcid.org/0000-0002-2502-9411>

Smolyakov Y.N., <https://orcid.org/0000-0001-7920-7642>

Tereshkov P.P., <https://orcid.org/0000-0002-8601-3499>

Fefelova E.V., <http://orcid.org/0000-0002-0724-0352>

Tsybikov N.N., <https://orcid.org/0000-0002-0975-2351>

Received 20.11.2020

Accepted 25.03.2021

Published 30.06.2021

Известно, что симпатическая и парасимпатическая нервная система играют ведущую роль в регуляции деятельности сердечно-сосудистой системы (ССС), в том числе сократимости и напряжения сосудистой стенки. Они работают совместно, оптимально приспособляя деятельность ССС в условиях нормы и патологии к различным физиологическим состояниям организма, в том числе к физической нагрузке [1]. В то же время от тонуса симпатического и парасимпатического отдела во многом зависит течение гипертонической болезни (ГБ), приводящей в конечном итоге к развитию сердечной недостаточности и даже летальным исходам. Эндотелиальная дисфункция и воспаление, сопутствующие ГБ и сердечной недостаточности также связаны с активностью симпатического нерва. Дисфункция вегетативной нервной системы может быть фактором риска сосудистых заболеваний, а гиперактивность симпатического отдела оказывает отрицательное влияние на гемодинамику [2, 3]. Важную роль в этих реакциях при ГБ принадлежит состоянию системы гемостаза и гемодинамическим функциям [4]. Между тем, нашими предыдущими исследованиями [5, 6] установлено, что у женщин, страдающих ГБ и находящихся на медикаментозной терапии (группа ГБ-1), развивается гиперкоагуляция, о чем свидетельствуют наличие тромбинемии, а также показатели, характеризующие тромбодинамические свойства сгустка: сокращение времени задержки роста сгустка, увеличение начальной и стационарной скорости образования тромба, увеличение его размеров и плотности. Кроме того, у больных ГБ-1, по сравнению со здоровыми, сгусток в 4,5 раза чаще начинал расти не только от субстрата тканевого фактора (ТФ), но и центра кюветы (спонтанный рост сгустка). Если же больные наряду с медикаментозной терапией на протяжении ряда лет принимали регулярные курсы кинезитерапии (умеренная, целенаправленная, строго индивидуально дозируемая физическая нагрузка, группа ГБ-2), то у них, по сравнению со здоровыми, отмечалось лишь незначительное сокращение времени задержки роста сгустка. Более того, у больных ГБ-2 появление сгустка в центре кюветы выявлялось в 2,5 раза реже, чем при ГБ-1 [5, 6].

Выраженные различия обнаружены нами у больных ГБ-1 и ГБ-2 в гемодинамических показателях. Так, у больных ГБ-1 проявлялось общее снижение микроциркуляторной динамики. Нормированные же величины показателей, характеризующих состояние кровотока, свидетельствовали о значимом повышении скоростных процессов, ассоциированных с осевым током крови. Следовательно, баланс распределения ско-

ростей в артериях и микроциркуляторном русле у женщин с ГБ-1 изменяется в сторону центрососудистых сдвигов. Кроме того, в этой группе больных в области промежуточных осцилляций выявляются значимые отклонения крайне медленных осцилляторных индексов  $MAYER_{HI2}$ .

Что касается больных, систематически принимающих курсы кинезитерапии (группа ГБ-2), то у них значимые отличия от здоровых женщин выявлялись в пристеночном или эндотелиальном кровотоке [7].

Следует указать, что до сих пор остается мало изученной роль автономной нервной системы в механизме развития гиперкоагуляции и нарушениях гемодинамических функций у больных ГБ. Так же остается **неясным**, чем обусловлены столь выраженные различия в гемокоагуляции и гемодинамике у женщин ГБ-1 и ГБ-2 групп. Более того, в доступной литературе мы практически не встретили работ, в которых бы детально исследовалась взаимосвязь между показателями системы гемостаза и основными тестами, характеризующими состояние гемодинамики.

В то же время существует легкодоступный неинвазивный способ, позволяющий судить о балансе симпатического и парасимпатического (вагусного) отделов автономной нервной системы (АНС) как в условиях нормы, так и патологии. Им является метод, получивший наименование «вариабельности сердечного ритма» (ВСР) [7--9]. Пользуясь этим методом, можно с достаточной долей вероятности ответить на вопрос, какую роль играет АНС в регуляции системы гемостаза и гемодинамики у больных ГБ-1 и ГБ-2.

**Цель исследования** — изучение взаимосвязи между вариабельностью сердечного ритма (ВСР) системой гемостаза и гемодинамическими функциями у женщин с эссенциальной гипертензией (ГБ) в зависимости от методов применяемой терапии.

### Методика

Наблюдения проведены на 72 женщинах, страдающих ГБ. Все проводимые мероприятия соответствовали этическим стандартам, разработанным на основе Хельсинкской декларации всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2008 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266. Протокол исследования одобрен этической комиссией Читинской государственной медицинской академии.

Диагноз ГБ всем пациенткам был выставлен на основании признаков поражения органов—мишеней: ги-

пертрофия левого желудочка по данным эхокардиографии, локальное сужение артерий сетчатки, ультразвуковые признаки атеросклеротического поражения аорты и сонных артерий. Критериями исключения были ассоциированные с ГБ клинические состояния, врожденные и приобретенные пороки сердца, кардиомиопатия, сахарный диабет, нарушения функции щитовидной железы, злокачественные новообразования, болезни крови, хроническая обструктивная болезнь легких с тяжелой дыхательной недостаточностью, хроническая почечная и печеночная недостаточность, воспалительные заболевания, ожирение при индексе массы тела более  $40,0 \text{ кг/м}^2$ , прием дезагрегантов, антикоагулянтов.

Все пациентки были разделены на 2 группы. В первую (ГБ-1) вошли 37 женщин страдающих артериальной гипертензией II стадии с высоким дополнительным риском развития сердечно-сосудистых осложнений. Средний возраст обследуемых этой группы составил  $57,8 \pm 4,3$  года, ИМТ  $28,6 \pm 4,4 \text{ кг/м}^2$ . Больные группы ГБ-1 получали лечение в виде монотерапии или комбинации двух антигипертензивных препаратов.

Во вторую группу (ГБ-2) были включены 35 женщин (возраст  $56,7 \pm 4,1$  лет; ИМТ  $28,2 \pm 4,3 \text{ кг/м}^2$ ), также страдающих артериальной гипертензией II стадии с высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений, регулярно проходивших на протяжении 2–3 лет по 3–4 полуторамесячных курса кинезитерапии. В качестве медикаментозного лечения пациенткам обеих групп были назначены бета-блокаторы, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, блокаторы рецепторов к ангиотензину II. При этом количество женщин, получающих бета-блокаторы, было сопоставимо в обеих группах.

Длительность заболевания в группах составляла в среднем 6–7 лет. В каждом конкретном случае в зависимости от состояния больных, уровня АД, степени физической тренированности и наличия сопутствующих заболеваний назначался индивидуальный курс кинезитерапии на специальных тренажерах. При этом расход энергии не превышал 200–300 килокалорий за одно занятие.

К моменту исследования, в группе находившейся на медикаментозной терапии (ГБ-1) у 31 пациентки был достигнут целевой уровень артериального давления (АД), у 6 – цифры АД были выше, что требовало дополнительной коррекции доз получаемых препаратов. В конечном итоге на момент начала исследования в этой группе больных АД составляло  $135,7 \pm 11,5/79,4 \pm 9,3 \text{ мм рт. ст.}$  У женщин, регулярно занимающихся физическими упражнениями (ГБ-2),

коррекция АД потребовалась лишь 1 больной. В группе ГБ-2 АД в начале исследования в среднем соответствовало  $127,5 \pm 9,2/76,9 \pm 6,8 \text{ мм рт. ст.}$

Нами изучались следующие показатели, характеризующие состояние свёртывающей активности крови: активированное парциальное тромбопластиновое время – (АПТВ), протромбиновое время (ПТВ) с вычислением МНО, тромбиновое время (ТВ), концентрация фибриногена, факторов II (протромбин), IIa (тромбин), IX и X [10]. Кроме перечисленных методов исследования определялся пространственный рост фибринового сгустка, осуществляемый с помощью прибора «Регистратор тромбодинамики Т-2» [11]. При использовании данного метода регистрируются следующие параметры:  $T_{lag}$  – задержка роста сгустка,  $V_i$  – начальная скорость его роста,  $V_s$  – стационарная скорость роста,  $D$  – его плотность,  $C_{30}$  – размер основного сгустка на 30-й мин исследования. Достоинством способа является его объективность и то, что программой предусмотрена фоторегистрация роста сгустка через 5, 15 и 30 мин.

Для исследования кровотока использовался датчик, работа которого основана на явлении динамического рассеяния света (DLS, Dynamic Light Scattering) инфракрасного (840 нм) лазера от потока эритроцитов в подкожном микроциркуляторном русле. Сдвиговые скорости относительно движения слоев разделялись на отдельные компоненты, характеризующиеся частотой доплеровского сигнала отражения [12, 13].

Активность движения в определенном диапазоне скоростей сдвига (частоты доплеровских сигналов) оценивалась в виде гемодинамических индексов (НИ – Hemodynamic Index). Частотные диапазоны могут быть ассоциированы с диаметром сосуда, скоростью тока крови, вязкостью и другими процессами внутрисосудистого взаимодействия.

Индекс НИ, связанные с низким диапазоном частот (НИ1), определяет медленные межслоевые сдвиги (большой диаметр сосуда, медленное пристеночное взаимодействие с эритроцитами). Высокочастотная область (НИ3) характеризует быстрое межслоевое движение (в сосудах малого диаметра, высокую скорость течения, поток в центре сосуда). НИ2 ассоциируется преимущественно с прекапиллярным и капиллярным кровотоком. Каждый НИ дополняется мерой медленных колебаний тока крови – осцилляторными гемодинамическими индексами (ОНИ): 0,005–0,05 Гц – движение крови, ассоциированное с эндотелием (NEUR), 0,05–0,15 Гц – движение крови, определяемое мышечным слоем сосудов (MAYER), 0,15–0,6 Гц – движение крови, задаваемое дыхательным циклом (RESP) и 0,6–3 Гц – пульсовыми толчками (PULSE) [11].

Для оценки характеристик ВСП применялся метод фотоплетизмографии (ФПГ) [13]. Из пульсовой компоненты mDLS сигнала извлекалась информация о вариабельности RR интервалов, и рассчитывались ВСП индикаторы [6, 7]. Измерения производились в течение 3 мин.

Использованы следующие временные показатели: HR (Heart Rate) – частота сердечных сокращений (ЧСС) [уд/мин]; SDRR (Standard Deviation of RR intervals) – стандартное отклонение всех интервалов RR [мс] (отражает все долговременные компоненты и циркадные ритмы, ответственные за вариабельность); RMSSD (Root Mean Square of the Successive Differences) – квадратный корень из средней суммы квадратов разностей RR интервалов [мс] (относится к изменениям в краткосрочном периоде и отражает отклонения в тоне автономной нервной системы, которые преимущественно являются вагус-опосредованными).

Частотный анализ представлен индексами: LF – мощность в диапазоне низких частот (0,04-0,15 Гц) [мс<sup>2</sup>], обусловлена активностью симпатического отдела и отражает время задержки барорефлекторной петли; HF – мощность в диапазоне высоких частот (0,16-0,5 Гц) [мс<sup>2</sup>], связана с дыхательными движениями и главным образом обусловлена вагусной активностью; PWR – сумма низкочастотной LF и высокочастотной компонент HF [мс<sup>2</sup>]; LF/HF – отношение мощностей (отражает общий симпатовагусный баланс). Анализ нелинейной вариабельности содержит: CVI (Cardiac Vagal Index) – нелинейный парасимпатический индекс; CSI (Cardiac Sympathetic Index) – нелинейный симпатический индекс [14].

Статистическая обработка выполнена с помощью языка R (<http://cran.r-project.org>) версии 3.6.2. Расчет корреляционных матриц произведен функцией `corr.test`, входящей в состав пакета `psych`. Рассчитанные матрицы визуализированы функцией `corrplot` (пакет `corrplot`). Для оценки взаимной связи между показателями ВСП, АД гемодинамическими тестами применен непараметрический коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Количественные показатели представлены в формате  $M \pm SD$ .

Полученные данные представлены графически на рисунке комбинированной корреляционной матрицей в виде двух полуматриц, отражающих корреляционные взаимосвязи исследуемых показателей. В правом верхнем углу (отделяемом диагональю) расположена полуматрица корреляций в группе ГБ-1, в левом нижнем ГБ-2. Дополнительными квадратами обозначены кластеры, характеризующие взаимодействие показате-

телей в пределах одного из использованных методов исследования. Остальное поле матрицы занимают кластеры корреляционных связей между параметрами, полученными различными методами. На рисунках отображены только значимые взаимосвязи ( $p < 0,05$ ). Также исключены диагональные взаимосвязи показателей самих с собой.

### Результаты исследований

В первой серии наблюдений было изучено, как взаимодействуют между собой показатели, ВСП и тесты, характеризующие состояние системы гемостаза (рис. 1).

Проведенные исследования показали, что у больных ГБ-1 существуют отрицательные связи HR с ПТВ и ТВ ( $r = -0,36$ ;  $p = 0,05$ ;  $r = -0,38$ ;  $p = 0,037$ ), а также положительные значимые HF с концентрацией фибриногена ( $r = 0,41$ ;  $p = 0,028$ ). Кроме того, выявляются тесные положительные взаимосвязи SDNN, SDDSD, RMSSD, HF и CVI с концентрацией тромбина ( $r = 0,61$ ;  $p = 0,0003$ ;  $r = 0,62$ ;  $p = 0,0003$ ;  $r = 0,54$ ;  $p = 0,004$ ;  $r = 0,61$ ;  $p = 0,0003$ ;  $r = 0,57$ ;  $p = 0,0008$ , соответственно) и отрицательные – с CSI ( $r = -0,57$ ;  $p = 0,0008$ ).

В то же время у больных ГБ-1 существует положительная связь RMSSD с начальной ( $r = 0,72$ ;  $p = 0,016$ ), а между RMSSD ( $r = 0,79$ ;  $p = 0,004$ ), PWR ( $r = 0,70$ ;  $p = 0,018$ ) и HF со стационарной скоростью ( $r = 0,79$ ;  $p = 0,004$ ) образования фибринового сгустка. Одновременно выявлены положительные связи между RMSSD и HF и размером образуемого фибринового сгустка ( $r = 0,69$ ,  $p = 0,019$ ;  $r = 0,745$ ,  $p = 0,008$ ). Полученные сведения говорят о том, что сдвиги в системе гемостаза у больных ГБ-1, обусловленные деятельностью сердца и осуществляемые при участии как симпатического, так и парасимпатического отделов АНС, направлены на усиление гемостатических свойств крови, что способствует возникновению тромботических осложнений.

В группе женщин с ГБ-2 обнаружены отрицательные взаимосвязи RMSSD и положительные CVI с ПТВ ( $r = -0,59$ ;  $p = 0,003$ ;  $r = 0,53$ ;  $p = 0,007$ , соответственно). Кроме того, выявлена положительная взаимосвязь между LF/HF и концентрацией фибриногена ( $r = 0,527$ ;  $p = 0,007$ ), а также положительная связь SDDSD и отрицательная CSI с фактором IX ( $r = 0,42$ ;  $p = 0,032$ ;  $r = -0,422$ ;  $p = 0,032$ , соответственно). В то же время значимых связей между показателями ВСП и тестами, характеризующими пространственный рост сгустка (тромбодинамические показатели), нам обнаружить не удалось.

Приведенные данные говорят о том, что АНС у больных ГБ-2 с учетом применяемой гипотензивной

терапии (в том числе  $\beta$ -блокаторов) практически не оказывает воздействий на систему гемостаза. Всё это приводит к тому, что состояние системы гемостаза у больных ГБ-2 приближается к показателям здоровых женщин [5, 15, 16]

В следующей серии исследований было решено выяснить, какие взаимосвязи существуют между тестами, характеризующими ВСР и гемодинамическими показателями, свидетельствующими о состоянии кровотока (рис. 2).

При ГБ-1 имеются значимые тесные положительные взаимосвязи между общим числом сердечных сокращений (HR) и гемодинамическими индексами HI1 ( $r=0,41$ ;  $p=0,019$ ), HI2 ( $r=0,38$ ;  $p=0,03$ ), RH12 ( $r=0,50$ ;  $p=0,003$ ) и отрицательная с RH13 ( $r=-0,48$ ;  $p=0,004$ ). Полученные данные позволяют говорить о том, что чем больше число сердечных сокращений, тем сильнее пристеночный (эндотелиальный) и промежуточный (между осевым и эндотелиальным) кровотоки и тем относительно слабее осевой кровотоки. Кроме того, отмечается отрицательная взаимосвязь между по-

казателем RMSSD и RH13 ( $r=-0,37$ ;  $p=0,043$ ) Нами также выявлена положительная взаимосвязь RMSSD с отношением HI1/HI3 ( $r=0,39$ ;  $p=0,034$ ). Обнаруженные взаимосвязи носят закономерный характер и преимущественно обусловлены вагусными влияниями. И, наконец, обнаружена отрицательная взаимосвязь между HF и HI1/HI3 ( $r=-0,38$ ;  $p=0,04$ ).

Корреляционные взаимосвязи у больных ГБ-2 значительно отличаются от тех, что наблюдались в группе ГБ-1. В частности, у пациентов ГБ-2 выявлена отрицательная связь между SDNN и RH11 ( $r=-0,37$ ;  $p=0,048$ ), а также между PWR и RH11 ( $r=-0,403$ ;  $p=0,030$ ). Одновременно обнаружены положительные взаимосвязи между PWR и HI2 ( $r=0,40$ ;  $p=0,03$ ), HI3 ( $r=0,41$ ;  $p=0,03$ ). Так же найдены положительные взаимосвязи PWR с RH12 ( $r=0,39$ ;  $p=0,04$ ), HF и RH13 ( $r=0,38$ ;  $p=0,04$ ), и отрицательные HF с отношением HI1/HI3 ( $r=-0,44$ ;  $p=0,02$ ) и с RH11 ( $r=-0,46$ ;  $p=0,01$ ). Кроме того, выявлены отрицательные взаимосвязи между соотношением LF/HF и RH13 ( $r=-0,55$ ;  $p=0,002$ ), CSI и RH13 ( $r=-0,39$ ;  $p=0,03$ ), положитель-

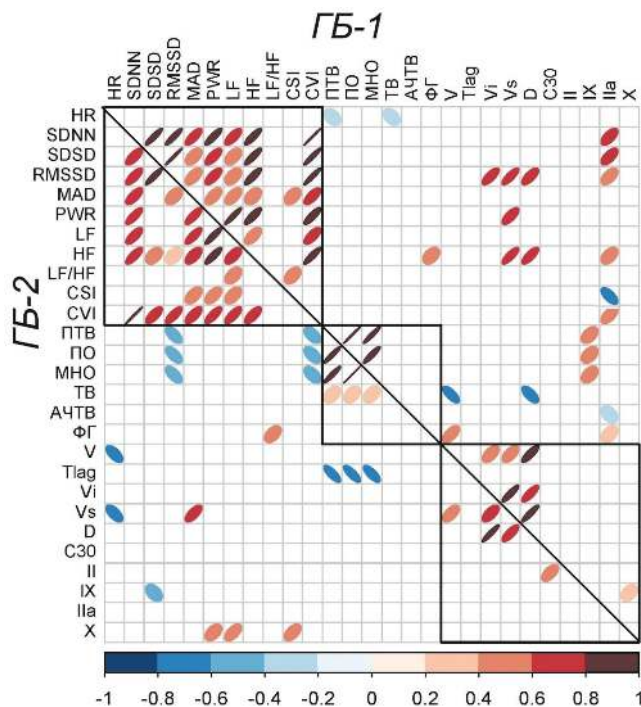


Рис. 1. Комбинированная корреляционная матрица показателей variability сердечного ритма и гемостаза у больных ГБ-1 (правый верхний треугольник) и ГБ-2 (левый нижний треугольник). ● – значимая ( $p<0,05$ ) положительная корреляция. ● – значимая ( $p<0,05$ ) отрицательная корреляция.

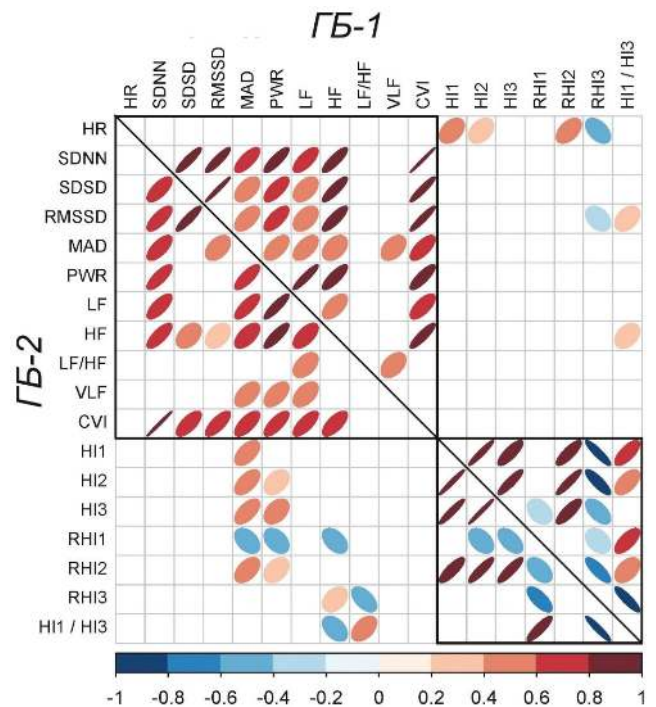


Рис. 2. Комбинированная корреляционная матрица показателей variability сердечного ритма и гемодинамических индексов у больных ГБ-1 (правый верхний треугольник) и ГБ-2 (левый нижний треугольник). ● – значимая ( $p<0,05$ ) положительная корреляция. ● – значимая ( $p<0,05$ ) отрицательная корреляция.

ная LF/HF с Н11/Н13 ( $r=0,472; p=0,01$ ). Представленные данные во многом зависят от соотношения активности симпатической и парасимпатической АНС и в основном определяются значительным превалированием вагусных влияний [17, 18]. Не исключено, что более интенсивными воздействиями блуждающего нерва обусловлена более быстрая и наиболее устойчивая нормализация кровяного давления у больных ГБ-2.

Следует указать, что полученные нами данные во многом согласуются с результатами других исследователей [19], обнаруживших у больных ГБ, находящихся в условиях высокогорья, положительные взаимосвязи между LF и основными тестами, характеризующими состояние гемодинамики, что объясняется превалированием вагусных влияний.

Одной из задач наших исследований явилось изучение взаимосвязи между ВСП и осцилляторными индексами, характеризующими состояние автономной регуляции гемодинамических функций (рис. 3).

Как видно из представленных в матрице данных, у больных ГБ-1 имеется значительное число как поло-

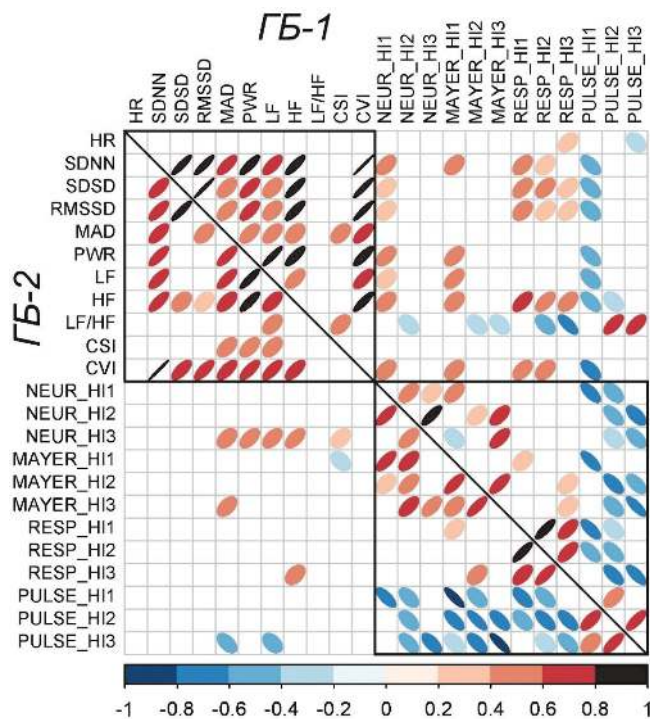
жительных, так и отрицательных взаимосвязей между ВСП и осцилляторными индексами, что не вызывает удивления, так как деятельность сердца и тонус сосудов, определяющие характер гемодинамики, регулируются одними и теми же нейрогуморальными факторами. Мы же считаем нужным остановиться на основных показателях, убрав из матрицы многочисленные связи между ВСП, дыхательными (RESP) и сердечными (PULSE) ритмами, ибо их взаимосвязь настолько очевидна, что не требует дополнительных разбирательств и разъяснений.

Прежде всего, бросается в глаза, что у больных ГБ-1 большинство показателей ВСП (SDNN, SDS, RMSSD; PWR, LF, HF, CVI) положительно коррелируют с NEUR\_H11 ( $r=0,49; p=0,004; r=0,38; p=0,03; r=0,38; p=0,04; r=0,52; p=0,003; r=0,37; p=0,04; r=0,45; p=0,01; r=0,451; p=0,007$ , соответственно), тогда как с NEUR\_H12 и NEUR\_H13 (за исключением отрицательной взаимосвязи с LF/HF ( $r=-0,38; p=0,04$ )), подобные корреляции не обнаружены. Полученные данные говорят о том, что изменения сердечной деятельности, непосредственно или опосредованно обусловленные нейрорегуляторными механизмами, связанными с эндотелиальным кровотоком, в значительной степени обусловлены влияниями блуждающего нерва.

Особый интерес представляют взаимосвязи ВСП с ритмом MAYER, которые всегда усиливаются при симпатической активации [20]. Нами установлено, что у больных ГБ-1 имеются тесные прямые связи между SDNN; PWR, LF, HF и CVI с одной стороны и MAYER\_H11 – с другой ( $r=0,41; p=0,02; r=0,51; p=0,004; r=0,55; p=0,0009; r=0,4; p=0,03; r=0,451; p=0,007$ , соответственно). Представленные сведения свидетельствуют о том, что ВСП оказывает воздействие на эндотелиальный кровоток за счет баланса между симпатическими и парасимпатическими влияниями.

Нами выявлены отрицательные взаимосвязи между сочетаниями LF/HF (соотношение, характеризующее симпатовагусный баланс), CSI (симпатический индекс) и MAYER\_H12 ( $r=-0,45; p=0,007; r=-0,38; p=0,03$ , соответственно). Полученные данные позволяют предположить, что воздействие на промежуточный кровоток осуществляется через симпатический отдел автономной нервной системы. Наконец, установлена отрицательная связь между соотношением LF/HF и MAYER\_H13 ( $r=-0,39; p=0,03$ ).

Анализируя полученные сведения, мы можем предположить, что сдвиги в ВСП у больных ГБ-1 играют определённую роль в нейрогенных воздействиях на гемодинамику через пока еще мало изученный ритм



**Рис. 3.** Комбинированная корреляционная матрица показателей вариабельности сердечного ритма и осцилляторных индексов у больных ГБ-1 (правый верхний треугольник) и ГБ-2 (левый нижний треугольник). ● – значимая ( $p<0,05$ ) положительная корреляция. ● – значимая ( $p<0,05$ ) отрицательная корреляция.



MAYER [20, 21]. В то же время не подлежит сомнению, что эти влияния должны быть обоюдными, ибо волны MAYER являются переходными колебательными реакциями на гемодинамические возмущения. Более того, амплитуда волн MAYER связана как с силой возбуждающих возмущений, так и чувствительностью симпатического компонента барорецепторного рефлекса, тогда как парасимпатические воздействия оказывают отрицательные влияния на их частоту и амплитуду [21].

В следующей серии исследований мы выяснили, каков характер взаимодействий между ВСР и осцилляторными индексами у женщин группы ГБ-2. При этом обнаружено лишь наличие положительных связей между показателями LF, HF и NEUR\_H13 ( $r=0,55$ ;  $p=0,002$ ;  $r=0,52$ ;  $p=0,003$ ;  $r=0,58$ ;  $p=0,0009$ , соответственно), что свидетельствует о сбалансировании симпатической и парасимпатической нервной системы в регуляции гемодинамических функций. Полученные данные свидетельствуют о том, что гемодинамические функции у больных ГБ-2 более устойчивы и практически не зависят от нейрогенных осцилляторных воздействий (рис. 4).

Одной из задач наших исследований явилось выяснение взаимосвязи между показателями, характеризующими состояние системы гемостаза и основными гемодинамическими индексами. Следует заметить, что это вопрос совершенно не освещен в литературе

Проведенные исследования показали, что в группе ГБ-1 существуют отрицательная связь ПТВ с RH12 ( $r=-0,37$ ;  $p=0,04$ ) и положительная – с RH13 ( $r=0,39$ ;  $p=0,03$ ). Кроме того, устанавливаются положительные связи концентрации фибриногена с H11, H12, H13 ( $r=0,40$ ;  $p=0,02$ ;  $r=0,34$ ;  $p=0,03$ ;  $r=0,38$ ;  $p=0,03$ , соответственно).

Аналогичные взаимоотношения выявляются между тромбодинамическими и гемодинамическими показателями. У больных ГБ-1 выявляются положительные связи между начальной скоростью образования, а также размером сгустка и RH1 ( $r=0,65$ ;  $p=0,011$ ;  $r=0,56$ ;  $p=0,04$ , соответственно) и отрицательные связи с RH13 ( $r=-0,78$ ;  $p=0,001$ ;  $r=-0,69$ ;  $p=0,006$ ;  $r=-0,56$ ;  $p=0,0001$ ;  $r=0,73$ ;  $p=0,003$  соответственно).

Представленные данные свидетельствуют об очень тесных взаимосвязях между показателями, характеризующими способность крови образовывать фибриновый сгусток и гемодинамическими функциями. Обращает на себя внимание, что эти изменения захватывают в основном сдвиги в пристеночном (H11, RH11) и осевом (H13, RH13) кровотоках. С большой осторожностью можно предположить, что обнару-

женные изменения носят приспособительный характер, ибо повышение концентрации плазменных факторов (особенно фибриногена), скорости образования и размера фибринового сгустка с одновременным усилением потоковых сдвигов (H11, H12, H13) должно препятствовать застою крови и, следовательно, тромбообразованию.

В группе ГБ-2 выявлена отрицательная связь ТВ с RH11 ( $r=-0,4$ ;  $p=0,04$ ) и положительная – с RH13 ( $r=0,44$ ;  $p=0,01$ ), а также обратная связь между ТВ и отношением H11/H13 ( $r=-0,44$ ;  $p=0,01$ ), что свидетельствует о преобладании отрицательных влияний ТВ на эндотелиальный (пристеночный) кровоток над положительными, связанными с центральным током крови. Кроме того, установлены положительные связи фактора IX с H11, H12, H13 и RH12 ( $r=0,50$ ;  $p=0,005$ ;  $r=0,49$ ;  $p=0,006$ ;  $r=-0,50$ ;  $p=0,006$ ;  $r=0,42$ ;  $p=0,02$ , соответственно). В группе ГБ-2 отмечено наличие отрицательной связи времени задержки роста сгустка с H13 ( $r=-0,57$ ;  $p=0,04$ ), а также положительной – плотности сгустка с RH11 ( $r=0,57$ ;  $p=0,04$ ).

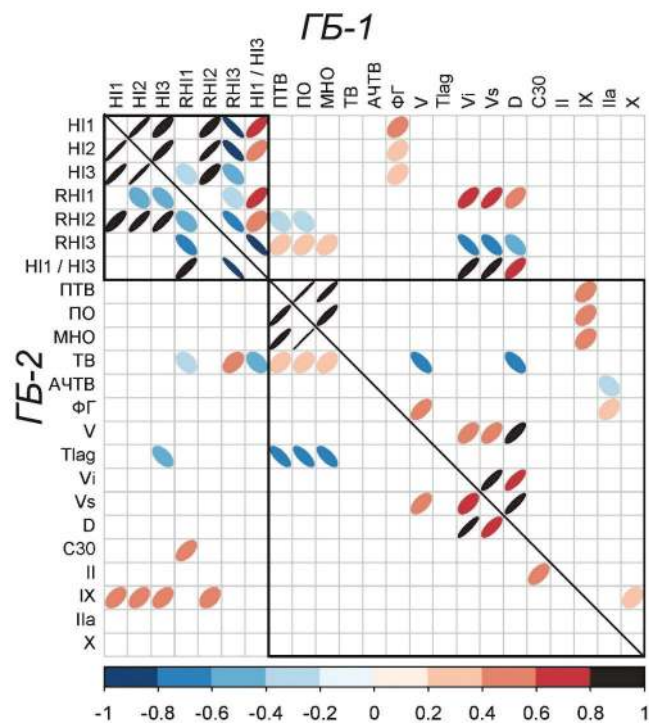


Рис. 4. Комбинированная корреляционная матрица гемодинамических индексов и показателей гемостаза у больных ГБ-1 (правый верхний треугольник) и ГБ-2 (левый нижний треугольник). ● – значимая ( $p<0,05$ ) положительная корреляция. ● – значимая ( $p<0,05$ ) отрицательная корреляция.

Полученные данные позволяют высказать предположение, что выявленные взаимосвязи, как и в группе ГБ-1, носят приспособительный характер, так как препятствуют усилению тромбообразования.

Особый интерес представляет взаимосвязь системы гемостаза с осцилляторными индексами, так как позволяет судить о тонких механизмах регуляции и того, и другого процесса.

Оказалось, что в группе ГБ-1 имеются отрицательные взаимосвязи между ПТВ и RESP Н13 ( $r=-0,36$ ;  $p=0,04$ ); PULSE Н12 ( $r=-0,40$ ;  $p=0,02$ ) и PULSE Н13 ( $r=-0,45$ ;  $p=0,01$ ). Вместе с тем, концентрация фибриногена положительно коррелирует с NEUR Н11 ( $r=0,443$ ;  $p=0,011$ ) и MAYER Н13 ( $r=0,367$ ;  $p=0,039$ ). Уровень тромбина положительно связан NEUR с Н11 ( $r=0,42$ ;  $p=0,02$ ). Время задержки роста сгустка положительно связано с NEUR Н13 и MAYER Н13 ( $r=0,6$ ;  $p=0,03$ ;  $r=0,71$ ;  $p=0,005$ , соответственно)

У больных группы ГБ-2 время задержки роста сгустка положительно коррелирует с NEUR Н13 ( $r=0,62$ ;  $p=0,02$ ), а начальная – скоростью образования и размером сгустка отрицательно связаны – с NEUR Н11, NEUR Н12, NEUR Н13 (для начальной скорости –  $r=-0,59$ ;  $p=0,03$ ;  $r=-0,69$ ;  $p=0,009$ ;  $r=-0,72$ ;  $p=0,005$ , соответственно; для размера сгустка –  $r=-0,71$ ;  $p=0,006$ ;  $r=-0,8$ ;  $p=0,001$ ;  $r=-0,81$ ;  $p=0,0008$ , соответственно). Наконец, проявляется положительная корреляция между стационарной скоростью образования сгустка и RESP Н11 ( $r=0,66$ ;  $p=0,01$ ).

С большой осторожностью можно говорить о том, что реакции на нейрогенные воздействия в группе ГБ-2 носят более тонкий приспособительный характер, ибо усиление NEUR Н11, NEUR Н12, NEUR Н13 должно сопровождаться уменьшением наклонности к тромбообразованию (связи носят отрицательный характер).

Почему же у женщин с ГБ-2 не только более благоприятно протекает заболевание, но и изменяется характер корреляционных связей между ВСР, показателями системы гемостаза и гемодинамики? Известно, что умеренные регулярные физические нагрузки снижают при гипертонической болезни АД, а в начальных стадиях способствуют её нормализации [22, 23]. При умеренной регулярной физической нагрузке у больных ГБ уменьшается частота сердечных сокращений [24]. В то же время высокий ритм сердечной деятельности, нередко наблюдаемый у больных ГБ, является дополнительным риском развития сердечно-сосудистых катастроф [2].

При регулярной физической нагрузке образуется значительное число биологически активных соедине-

ний (гормонов, цитокинов и др.), получивших наименование миокины и оказывающих благотворное влияние на состояние поперечно-полосатой и гладкой мускулатуры, в том числе кровеносных сосудов. К миокинам относятся IL4, IL6, IL7, IL15, миостатин, LIF (фактор, ингибирующий лейкемию), BDNF (нейротрофический фактор мозга), IGF1 (инсулиноподобный фактор роста), FGF2 (фактор роста фибробластов 2), FGF21, FSTL1 (связанный с фоллистатинном белок 1), ирисин, EPO (эритропоэтин) и ВАИВА ( $\beta$ -аминоизомасляная кислота) [25].

Миокины в организме человека играют, прежде всего, иммунорегуляторную роль. Другим важным эффектом миокинов является, регуляция энергетического гомеостаза. Они также влияют на рост мышечных волокон и их регенерацию, стимулируют ангиогенез, участвуют в регуляции метаболизма глюкозы и оказывают благотворное влияние на состояние сердечно-сосудистой системы [26]

Особую роль в регуляции деятельности ССС играет гормон ирисин, образуемый мышечной и жировой тканью при физической нагрузке [27], содержание которого при ГБ уменьшается, а при приёме кинезитерапевтических процедур возрастает [27]. Ирисин является регулятором термогенеза [28], под его воздействием улучшаются когнитивные функции [29] и деятельность сердечно-сосудистой системы [30]. Высказывается мнение, что ирисин может заменить целый комплекс физических упражнений [29].

Значительную роль в регуляции деятельности ССС играет гормон Meteorin-like (Metrn1), синтез которого усиливается при физической нагрузке в клетках скелетной мускулатуры. Его концентрация резко снижается при патологии ССС. Уровень Metrn1 в сыворотке также уменьшался по мере увеличения количества стенозированных сосудов и повышения АД. Более того, чем ниже концентрация Metrn1, тем выше риск возникновения сердечно-сосудистых катастроф [31, 32].

Другим важным миокином является ВАИВА ( $\beta$ -аминоизомасляная кислота), содержание которой в плазме увеличивается при физической нагрузке и значительно уменьшается при заболеваниях сердечно-сосудистой системы [33]. Концентрация ВАИВА в крови обратно пропорциональна факторам риска сердечно-сосудистых катастроф [34].

За последние годы важную роль в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний отводят белку адрипину, экспрессируемому в печени, почках, сердце, эндотелии, жидкостях организма и ЦНС [35, 36]. Установлено, что чем выше уровень АД у больных эссенциальной гипертензией, тем ниже содержание адрипина

в крови [37]. При систематических физических нагрузках содержание андропина в крови возрастает [38]. В то же время при ГБ, сопровождаемой развитием эндотелиальной дисфункции, гиперкоагуляции и нарушениями пристеночного (эндотелиального) кровотока [19, 31], концентрация андропина в сыворотке резко падает [39]. Не исключено, что при ГБ-2 андропин играет не последнюю роль в нормализации деятельности ССС и системы гемостаза.

Разумеется, мы затронули лишь небольшую часть биологически активных соединений, главным образом миокинов, содержание которых возрастает при физической нагрузке и которые могут оказать влияние на состояние системы гемостаза и гемодинамики при ГБ у лиц, регулярно занимающихся физической нагрузкой. Безусловно, эта проблема заслуживает дальнейшего тщательного изучения.

Полученные данные намечают новые перспективы применения кинезитерапевтических процедур в комплексном лечении больных ГБ с целью нормализации не только кровяного давления, но и состояния системы гемостаза и гемодинамики. Более того, по результатам наших наблюдений напрашивается вывод, что в дальнейшем при увеличении числа наблюдений можно будет попытаться на основании исследований ВСР и показателей гемодинамики, разработать неинвазивные методы оценки основных показателей системы гемостаза.

Все представленные факты позволяют говорить о том, что под воздействием регулярных кинезитерапевтических процедур при ГБ не только может нормализоваться течение многих физиологических функций, в том числе гемостаза и гемодинамики, но и изменяться характер корреляционных отношений. Значение этих фактов для теории и практики клинической медицины требует проведения дополнительных методов исследования.

### Литература

(п.п. 1-3; 9; 10; 13-15; 18; 19; 21-23; 26-28; 30-39

см. References)

4. Ройтман Е.В. Клиническая гемореология. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2003; 3; 13-27.
5. Кузник Б.И., Давыдов С.О., Гусева Е.С., Смоляков Ю.Н., Степанов А.В., Цыбиков Н.Н. Роль форменных элементов крови в формировании гемокоагуляционных сдвигов при гипертонической болезни. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2018; 4: 84-92.
6. Кузник Б.И., Давыдов С.О., Ройтман Е., Смоляков Ю.Н., Гусева Е., Степанов А.В. и др. Белок GDF15 и состояние кардиогемодинамических функций у женщин с гипертонической болезнью. *Врач*. 2019; 30(1): 3-9. <https://doi.org/10.29296/25877305-2019-01-01>
7. Смоляков Ю.Н., Кузник Б.И., Гусева Е.С., Давыдов С.О. Вариабельность сердечного ритма у женщин, страдающих гипертонической болезнью, под воздействием регулярной умеренной физической нагрузки. *Системные гипертензии*. 2019; 16(4): 61-64. <https://doi.org/10.26442/2075082X.2019.4.190636>
8. Кузник Б.И., Давыдов С.О., Гусева Е.С., Степанов А.В., Смоляков Ю.Н., Файн И.В. и др. Влияние лейкоцитов на деятельность сердечно-сосудистой системы у женщин с повышенным артериальным давлением. *Физиология человека*. 2019; 45(6): 76-85. <https://doi.org/10.1134/S0131164619050084>
11. Баркаган З.С., Момот А.П. *Диагностика и контролируемая терапия системы гемостаза*. М.: Ньюдиамед; 2008.
12. Пантелеев М.А., Васильев С.А., Синауридзе Е.И. *Практическая коагулология*. М.: *Практическая медицина*. 2011.
16. Мартынов А.И., Аветян Н.Г., Гороховская Г.Н., Акатова Е.В., Кондрахин А.П., Романовская Г.А. Особенности системы гемостаза у больных артериальной гипертонией. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2004; 3(4): 20-7.
17. Калоева А.Э., Басиева О.О., Калоев С.З., Кусова А.Б. Состояние факторов системного гемостаза у женщин с артериальной гипертонией в перименопаузе. *Современные проблемы науки и образования*. 2014; 2: 337-9.
20. Курданов Х.А., Бесланев И.А., Батырбекова Л.М., Курданова М.Х. Адаптационные возможности основных регуляторных систем у больных с артериальной гипертонией в условиях высокогорья. *Вестник РАМН*. 2014; 69(1-2): 26-31.
24. Степанов А.В., Давыдов С.О., Кузник Б.И., Гусева Е.С., Смоляков Ю.Н. Влияние умеренной физической нагрузки на концентрацию адгезивной молекулы JAM-A, эстрогена, прогестерона, пролактина и липидный обмен у женщин, страдающих гипертонической болезнью. *Забайкальский медицинский вестник*. 2019; 4: 122-7.
25. Котовская Ю.В., Ткачёва О.Н., Рунихина Н.К., Лузина А.В. Физические нагрузки как средство профилактики сердечно-сосудистых заболеваний у пожилых пациентов. *Доктор.Ру*. 2019; (2): 19-22. <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2019-157-2-19-22>
29. Кузник Б.И., Давыдов С.О., Степанов А.В. Роль мышечного гормона ирисина в регуляции физиологических функций в норме и патологии. *Успехи физиологических наук*. 2018; 49(4): 59-80.

### References

1. Vivek K.N., Drisya R.C. Thrombotic Tendencies in Excess Catecholamine States, Biogenic Amines in Neurotransmission and Human Disease. *Ahmet Ucar, IntechOpen*. 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.81929>
2. Pagano G., Corbi G., Ferrara N. Adrenergic Nervous System and Hemostasis. *J Hemaiol Thrombo*. 2014; 2(2): e108. <https://doi.org/10.4172/2329-8790.1000e108>
3. Sheng Y., Zhu L. The crosstalk between autonomic nervous system and blood vessels. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*. 2018; 10(1): 17-28.
4. Roytman E.V. Clinical hemorheology. *Trombоз, гемостаз и реология*. 2003; 3; 13-27. (in Russian)
5. Kuznik B.I., Davydov S.O., Guseva E.S., Smolyakov Yu.N., Stepanov A.V., Tsybikov N.N. The role of blood cells in the formation of hemocoagulation shifts in hypertension. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2018; 4: 84-92. (in Russian)
6. Kuznik B.I., Davydov S.O., Roitman E., Smolyakov Yu.N., Guseva E.S., Stepanov A.V., et al. Protein GDF15 and the state of cardio-

- dynamic functions in women with hypertension. *Vrach.* 2019; 30(1): 3-9. (In Russian). <https://doi.org/10.29296/25877305-2019-01-01>
7. Smolyakov Y.N., Kuznik B.I., Guseva E.S., Davydov S.O. Heart rate variability in women suffering from hypertension under the influence of regular moderate physical activity. *Sistemnye gipertenzii.* 2019; 16(4): 61-4. (in Russian) <https://doi.org/10.26442/2075082X.2019.4.190636>
  8. Kuznik B.I., Davydov S.O., Guseva E.S., Stepanov A.V., Smolyakov Y.N., Fayn I.V., et al. The influence of leukocytes on the activity of the cardiovascular system in women with high blood pressure. *Fiziologiya cheloveka.* 2019 45(6): 76-85. (in Russian) <https://doi.org/10.1134/S0131164619050084>
  9. Pinheiro N., Couceiro R., Henriques J., Muehlsteff J., Quintal I., Goncalves L., et al. Can PPG be used for HRV analysis? *38th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC).* 2016; 2945-49. <https://doi.org/10.1109/EMBC.2016.7591347>
  10. Shaffer F., Ginsberg J.P. An overview of heart rate variability metrics and norms. *Frontiers in public health.* 2017; (5): 258. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00258>
  11. Barkagan Z.S., Momot A.P. *Diagnosis and controlled therapy of the hemostatic system. [Diagnostika i kontroliruemaya terapiya sistemy gemostaza].* Moscow: N'yudiamed; 2008. (in Russian)
  12. Panteleev M.A., Vasiliev S.A., Sinauridze E.I. *Practical coagulology. [Prakticheskaya koagulologiya].* Moscow: Prakticheskaya meditsina. 2011. (in Russian)
  13. Fine I., Kaminsky A.V., Shenkman L. A new sensor for stress measurement based on blood flow fluctuations. Dynamics and Fluctuations in Biomedical Photonics XIII. *SPIE Press.* 2016; 9707: 970705. <https://doi.org/10.1117/12.2212866>
  14. Fine I., Kaminsky A.V., Kuznik B.I., Kustovsya E.M., Maximova O.G., Shenkman L. New noninvasive index for evaluation of the vascular age of healthy and sick people. *Journal of Biomedical Optics.* 2012; 17(8): 2-7. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.8.087002>
  15. Barbieri R., Scilingo E.P., Valenza G. Complexity and nonlinearity in cardiovascular signals. Springer. 2017.
  16. Martynov A.I., Avetyan N.G., Gorokhovskaya G.N., Akatova E.V., Kondrakhin A.P., Romanovskaya G.A. Hemostasis system in hypertensive patients. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika.* 2004; 3(4): 20-27. (in Russian)
  17. Kaloeva A.E., Basieva O.O., Kaloev S.Z., Kusova A.B. The state of factors of systemic hemostasis in women with arterial hypertension in perimenopause. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* 2014; 2: 337-9. (in Russian)
  18. Bond V., Curry B.H., Adams R.G.; Pemminati S., Gorantla V.R., Millis R.M. Cardiovascular responses to an isometric handgrip exercise in females with prehypertension. *N Am J Med Sci.* 2016; 8: 243-9. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.185032>
  19. Lataro R.M., Salgado H.C. Vagal-Immune Interactions in the Control of Hypertension. *J Neurol Neuromed.* 2018; 3(6): 8-12.
  20. Kurdanov H.A., Beslaneyev I.A., Batyrbekova L.M., Kurdanova M.K. Adaptive capabilities of the main regulatory systems in patients with arterial hypertension in high altitude conditions. *Vestnik RAMN.* 2014; 69(1-2): 26-31. (in Russian)
  21. Julien C. The enigma of Mayer waves: Facts and models. *Cardiovascular research.* 2006; 70(1): 12-21. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.11.008>
  22. Lee C.J., Kim J.Y., Shim E., Hong S.H., Lee M., Jeon J.Y., et al. The effects of diet alone or in combination with exercise in patients with prehypertension and hypertension: a randomized controlled trial. *Korean Circ. J.* 2018; 8(7): 637-51. <https://doi.org/10.4070/kcj.2017.0349>
  23. Ziemssen T., Siepmann T. The Investigation of the Cardiovascular and Sudomotor Autonomic Nervous System. A Review. *Front. Neurol.* 2019; 10: 53. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00053>
  24. Stepanov A.V., Davydov S.O., Kuznik B.I., Guseva E.S., Smolyakov Y.N. The effect of moderate physical activity on the concentration of the adhesive molecule JAM-A, estrogen; progesterone; prolactin and lipid metabolism in women suffering from hypertension. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik.* 2019; 4: 122-7. (in Russian)
  25. Kotovskaya Yu.V., Tkacheva O.N., Runikhina N.K., Luzina A.V. Physical activity as a means of preventing cardiovascular disease in elderly patients. *Doctor.Ru.* 2019; (2): 19-22. (in Russian) <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2019-157-2-19-22>
  26. Jensen M.T., Suadicani P., Hein H.O., Gyntelberg F. Elevated resting heart rate; physical fitness and all-cause mortality: a 16-year followup in the Copenhagen Male Study. *Heart.* 2013; 99(12): 882-7. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2012-303375>
  27. Stránská Z., Svačina Š. Myokines – muscle tissue hormones. *VnitřLek.* 2015; 61(4): 365-8. (in Czech)
  28. Zhang Y., Song H., Zhang Y., Wu F., Mu Q., Jiang M., et al. Irisin Inhibits Atherosclerosis by Promoting Endothelial Proliferation Through microRNA126-5p. *J Am Heart Assoc.* 2016; 5(9): e004031. <https://doi.org/10.1161/JAHA.116.004031>
  29. Kuznik B.I., Davydov S.O., Stepanov A.V. The role of the muscle hormone irisin in the regulation of physiological functions in normal and pathological conditions. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk.* 2018; 49(4): 59-80. (in Russian)
  30. Boström P., Wu J., Jedrychowski M.P., Korde A., Ye L., Lo J.C., et al. A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature.* 2012; 481(7382): 463-8. <https://doi.org/10.1038/nature10777>
  31. Rana K.S., Arif M., Hill E.J., Brown J.E. Plasma irisin levels predict telomere length in healthy adults. *Age.* 2014; 36(2): 995-1001. <https://doi.org/10.1007/s11357-014-9620-9>
  32. White J.P., Salogiannis J., Laznik-Bogoslavski D., Wu J., Ma D., Spiegelman B.M. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1α/FNDC5 pathway. *Cell Metab.* 2013; 18(5): 649-59. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.09.008>
  33. Colaïanni G., Cuscito C., Mongelli T., New M.I., Zaidi M., Cinti S., et al. The myokineirisin increases cortical bone mass. *Proc Natl Acad Sci.* 2015; 112(39): 12157-162. <https://doi.org/10.1073/pnas.1516622112>
  34. Liu Z.X., Ji H.H., Yao M.P., Wang L., Wang Y., Zhou P., et al. Serum Metrnl is associated with the presence and severity of coronary artery disease. *J Cell Mol Med.* 2019; 23(1): 271-80. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13915>
  35. Roberts L.D., Boström P., O'Sullivan J.F., Schinzel R.T., Lewis G.D., Dejam A., et al. β-Aminoisobutyric acid induces browning of white fat and hepatic β-oxidation and is inversely correlated with cardiometabolic risk factors. *Cell Metab.* 2014; 19(1): 96-108. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.12.003>
  36. Schnyder S., Handschin Ch. Skeletal muscle as an endocrine organ: PGC-1α, myokines and exercise. *Bone.* 2015; 80: 115-25. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2015.02.008>
  37. Kumar K.G., Trevaskis J.L., Lam D.D., Sutton G.M., Koza R.A., Chouljenko V.N., et al. Identification of adropin as a secreted factor linking dietary macronutrient intake with energy homeostasis and lipid metabolism. *Cell Metab.* 2008; 8(6): 468-81. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.10.011>

38. Gulen B., Eken C., Kucukdagli O.T., Serinken M., Kocyigit A., Kiliç E., et al. Adropin levels and target organ damage secondary to high blood pressure in the ED. *Am J Emerg Med.* 2016; 34(11): 2061-4. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2016.04.014>
39. Görgens S.W., Eckardt K., Jensen J., Drevon C.A., Eckel J. Exercise and Regulation of Adipokine and Myokine Production. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2015; 135: 313-36. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2015.07.002>

**Сведения об авторах:**

**Гусева Екатерина Сергеевна**, канд. мед. наук, ассистент каф. поликлинической терапии, заместитель директора по клинико-экспертной и организационно-методической работе клиники «Академия здоровья», e-mail: guseva81@gmail.com;

**Давыдов Сергей Олегович**, доктор мед. наук, проф. каф. травматологии и ортопедии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», руководитель инновационной клиники «Академия Здоровья», e-mail: davydov-so@mail.ru;

**Кузник Борис Ильич**, доктор мед. наук, проф., каф. нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», научный консультант инновационной клиники «Академия Здоровья», e-mail: bi\_kuznik@mail.ru;

**Смоляков Юрий Николаевич**, канд. мед. наук, доцент, зав. каф. медицинской физики и информатики ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», научный консультант инновационной клиники «Академия Здоровья», e-mail: smolyakov@gambler.ru;

**Терешков Павел Петрович**, канд. мед. наук, зав. лаб. экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», e-mail: tpp6915@mail.ru;

**Фефелова Елена Викторовна**, канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», e-mail: fefelova.elena@mail.ru;

**Цыбиков Намжил Намзатович**, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», e-mail: thybikov@mail.ru

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-092.6: 616-092.4:615.01

Ветлугина Т.П., Прокопьева В.Д., Плотников Е.В., Ярыгина Е.Г., Лебедева В.Ф., Бохан Н.А.

## Повреждение эритроцитов и макромолекул плазмы крови у больных алкоголизмом и мембранопротекторный эффект солей лития

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»,  
634014, Томск, Россия, ул. Алеутская, д. 4

**Введение.** Нарушения параметров красной крови при алкоголизме, развитие окислительного стресса с увеличением продуктов окислительной модификации биомолекул обуславливают актуальность поиска защитных средств эритроцитов от токсического воздействия этанола. Перспективными для такого поиска могут быть соли лития, учитывая применение препаратов лития в качестве нормотимиков для лечения расстройств аффективного спектра.

**Цель** исследования – изучение показателей красной крови, факторов окислительного стресса у больных алкоголизмом и оценка защитного потенциала солей лития (аскорбата, сукцината, пирувата, fumarата и карбоната) от токсического действия этанола на эритроциты.

**Методика.** Материалом для исследования служили образцы крови 59 мужчин больных алкоголизмом и 38 здоровых мужчин (контроль). Гематологический анализ крови осуществляли на гематологическом анализаторе Micros 60. В плазме крови определяли показатели окислительного повреждения белков (по уровню карбонилированных белков) и перекисного окисления липидов (по уровню ТБК-реактивных продуктов) спектрофотометрическим методом. Мембранопротекторный эффект солей лития оценивали в опытах *in vitro* по степени гемолиза эритроцитов при действии этанола в присутствии солей лития в концентрации 1,2 ммоль/л в расчете на ион лития.

**Результаты.** У больных алкоголизмом установлено повышение среднего объема эритроцитов (MCV) и снижение параметров остальных показателей красной крови. Концентрации карбонилированных белков и ТБК-реактивных продуктов в плазме крови пациентов превышали контрольные значения. Соли лития (fumarат, пируват и аскорбат) в 1,5-1,7 раз повышали устойчивость эритроцитов к гемолизу, индуцированному этанолом. Карбонат лития такого эффекта не оказывал.

**Заключение.** У больных алкоголизмом обнаружены существенные повреждения эритроцитов и макромолекул плазмы крови. Fumarат, пируват и аскорбат лития демонстрировали высокий мембранопротекторный эффект, повышая устойчивость эритроцитов к токсическому действию этанола. Данные соли лития расширяют арсенал мембранопротекторных соединений, что в сочетании с нормотимическим действием лития позволяет использовать их для разработки импортозамещающих лекарственных средств лечения расстройств аффективного спектра.

**Ключевые слова:** эритроциты; этанол; гемолиз; карбонилированные белки; ТБК-реактивные продукты; мембранопротекторы; соли лития; алкоголизм

**Для цитирования:** Ветлугина Т.П., Прокопьева В.Д., Плотников Е.В., Ярыгина Е.Г., Лебедева В.Ф., Бохан Н.А. Повреждение эритроцитов и макромолекул плазмы крови у больных алкоголизмом и мембранопротекторный эффект солей лития.

*Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(2): 22-29.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.22-29

**Для корреспонденции:** Ветлугина Тамара Парфеновна, e-mail: vetlug@mail.tomsknet.ru

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования, написание текста – Ветлугина Т.П.; выполнение экспериментальной части исследования, сбор и обработка материала – Ветлугина Т.П., Прокопьева В.Д., Плотников Е.В., Ярыгина Е.Г., Лебедева В.Ф.; статистическая обработка – Плотников Е.В., Ярыгина Е.Г.; редактирование рукописи – Прокопьева В.Д., Бохан Н.А.

**Финансирование.** Работа поддержана частично грантом РФФ № 17-75-20045 (эксперименты по мембранопротекторному эффекту солей лития), грантом РФФИ № 18-44-700002 (изучение факторов окислительного стресса), частично выполнена за счет бюджетного финансирования НИИ психического здоровья, тема НИР № 0550-2019-0007, регистрационный номер АААА-А19-119020690013-2 (гематологический анализ крови).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 17.05 2020

Принята к печати 25.03.2021

Опубликована 30.06.2021

Vetlugina T.P., Prokopieva V.D., Plotnikov E.V., Yarygina E.G., Lebedeva V.F., Bokhan N.A.

## Damage of erythrocytes and blood plasma macromolecules in patients with alcoholism and the membrane-protective effect of lithium salts

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Aleutskaya St. 4, Tomsk 634014, Russian Federation

**Introduction.** In alcoholism, red blood variables are altered, and oxidative stress, along with an increase in the oxidative modification of biomolecules products, occurs. These effects have stimulated the search for agents to protect red blood cells against the toxic effects of ethanol. Lithium salts may be promising in this regard, since lithium preparations are used as normothymics for treating affective spectrum disorders.

**The aim** of this study was to investigate red blood indexes, factors of oxidative stress in patients with alcoholism and to assess the protective potential of the lithium salts, ascorbate, succinate, pyruvate, fumarate and carbonate, against the toxic effect of ethanol on red blood cells.

**Methods.** Blood samples were collected from 59 alcoholic men and 38 healthy men. Hematological analysis was performed with a Micros 60 hematological analyzer. In plasma, oxidative damage of proteins was determined by the amount of carbonylated proteins (CP), and lipid peroxidation was determined by the amount of TBA-reactive substances (TBARS), as measured spectrophotometrically. The membrane-protective effect of lithium salts was evaluated *in vitro* by the degree of hemolysis of red blood cells treated with ethanol in the presence of lithium salts at a concentration of 1.2 mmol/l lithium ion.

**Results.** In alcoholic patients, compared with normal patients, an increase in the mean corpuscular volume (MCV) and a decrease in all other red cell variables were found. Concentrations of CP and TBARS in plasma exceeded normal values. The lithium salts, fumarate, pyruvate, and ascorbate, elevated the resistance of red blood cells to ethanol-induced hemolysis by 1.5-1.7 times. Lithium carbonate had no effect.

**Conclusion.** Significant damage to red blood cells and plasma macromolecules was found in alcoholic patients. Lithium fumarate, pyruvate and ascorbate had a large membrane-protective effect. Thus, these salts increased the resistance of red blood cells to the toxic effects of ethanol. These salts expand the arsenal of membrane-protective compounds, which in combination with the normothymic effect of lithium, will allow them to be used in developing drugs for treatment of affective spectrum disorders.

**Keywords:** erythrocytes; ethanol; hemolysis; carbonylated proteins; TBA-reactive products; membrane protectors; lithium salts; alcoholism

**For citation:** Vetlugina T.P., Prokopieva V.D., Plotnikov E.V., Yarygina E.G., Lebedeva V.F., Bokhan N.A. Damage of erythrocytes and blood plasma macromolecules in patients with alcoholism and membrane-protective effect of lithium salts. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(2): 22-29. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.22-29

**For correspondence:** Tamara P. Vetlugina, PhD, Professor, Laboratory of Psychoneuroimmunology and Neurobiology, Mental Health Research Institute, Tomsk, Russian Federation, 4 Aleutskaya Str., e-mail:vetlug@mail.tomsknet.ru

**Contribution:** study concept and design, text writing – Vetlugina T.P.; performing experiments, collection and treatment of materials – Vetlugina T.P., Prokopieva V.D., Plotnikov E.V., Yarygina E.G., Lebedeva; statistics – Plotnikov E.V., Yarygina E.G.; editing – Prokopieva V.D., Bokhan N.A.

**Acknowledgment.** This study was partially supported by the Russian Science Foundation, project no. 17-75-20045 (experiments on the membrane-protective effect of lithium salts), partially supported by the Russian Foundation for Basic Research, project no. 18-44-700002 (study of oxidative stress factors) and also partially funded by the Institute of Mental Health, the research work no. 0550-2019-0007, state registration number AAAA-A19-119020690013-2 (hematological blood analysis).

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

### Information about the authors:

Vetlugina T.P., <https://orcid.org/0000-0003-2068-0931>

Prokopieva V.D., <https://orcid.org/0000-0002-4811-984X>

Plotnikov E.V., <https://orcid.org/0000-0002-4374-6422>

Yarygina E.G., <https://orcid.org/0000-0003-1047-2231>

Bokhan N.A., <https://orcid.org/0000-0002-1052-855X>

Received 17.05.2021

Accepted 25.03.2021

Published 30.06.2021

## Введение

Эритроциты – самые многочисленные клетки крови, выполняющие в организме жизненно важную роль по обеспечению кислородом, утилизации углекислого газа и других токсических веществ, поддержанию кислотно-щелочного баланса, реализации иммунных функций [1–3]. Повреждение мембран эритроцитов под влиянием токсических факторов приводит к структурно-функциональной дезорганизации эритроцитов, к снижению их гемолитической устойчивости и появлению патологических форм, нарушению процессов поддержания гомеостаза на уровне целого организма, к различным заболеваниям человека [4, 5].

К таким токсическим факторам относится этанол и продукт его метаболизма ацетальдегид, индуцирующие процессы окислительного стресса, развитие которого сопровождается окислительным повреждением (модификацией) биологических молекул и структурно-функциональным изменением биологических мембран [6, 7]. У лиц, злоупотребляющих алкоголем, значения большинства параметров эритроцитов существенно отличаются от нормы [8–10].

Аномалия параметров красной крови при алкоголизме определяет необходимость поиска средств защиты эритроцитов от действия этанола и факторов окислительного стресса. В терапии аффективных расстройств и алкогольной зависимости с аффективными нарушениями применяются препараты лития, чаще всего в виде карбоната, которые нормализуют психическое состояние, оказывая нормотимическое (антидепрессивное, седативное и антиманиакальное) действие [11–13]. Актуальным является поиск новых солей лития, обладающих наряду с нормотимическим, также антиоксидантным и мембранопротекторным эффектами. Для выбора наиболее перспективных соединений, как основы лекарственных средств комбинированного действия, в НИИ психического здоровья Томского НИМЦ проводятся исследования биологических свойств новых солей лития, при синтезе которых в качестве анионного компонента использованы аскорбат и субстраты цикла Кребса.

**Цель** исследования – изучение показателей красной крови, факторов окислительного стресса у больных алкоголизмом и оценка защитного потенциала солей лития (аскорбата, сукцината, пирувата, фумарата и карбоната) от токсического действия этанола на эритроциты.

## Методика

Материалом для исследования служила кровь 59 мужчин с синдромом алкогольной зависимости

(больных алкоголизмом) в возрасте 30–60 лет, поступивших на лечение в клинику НИИ психического здоровья Томского НИМЦ с диагнозом по МКБ-10 «Психические и поведенческие расстройства в результате употребления алкоголя (синдром зависимости – F10.21 и синдром отмены – F10.30)». Длительность заболевания составила  $14,55 \pm 9,31$  лет. Лабораторные исследования у пациентов проведены на 3–5-е сут поступления в стационар после алкогольной детоксикации.

Контролем при биологических исследованиях служили образцы крови 38 практически здоровых мужчин соответствующего возраста.

Забор крови осуществляли из локтевой вены утром натощак с использованием стерильной системы однократного применения Vacutainer с антикоагулянтом EDTA (для гематологического анализа) и с ингибитором свертывания крови Sodium Heparin (для получения плазмы крови и выделения эритроцитов). Плазму крови разливали в пробирки для микропроб типа эппендорф, замораживали и хранили в низкотемпературной камере при  $-80^\circ\text{C}$  до использования.

Исследование проводили с соблюдением принципов информированного согласия Хельсинской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации, на проведение исследований с участием человека получено разрешение локального этического комитета при НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протоколы № 361 от 23.10.2017 г.; № 112 от 26.06.2018 г.).

Гематологический анализ крови осуществляли на гематологическом анализаторе Micros 60 (HORIBA Medical). Факторы окислительного стресса (ОС) оценивали в плазме крови по продуктам окислительной модификации белков и липидов. Окислительную модификацию белков определяли по уровню карбонилированных белков (карбонилы белков, КБ) с использованием 2,4-динитрофенилгидразина (Panreac, Испания). Перекисное окисление липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию продуктов, взаимодействующих с тиобарбитуровой кислотой – ТБК-реактивных продуктов (ТБК-РП) с применением набора реактивов ТБК АГАТ (ООО «Агат-Мед», РФ). Методики были адаптированы для измерения оптической плотности конечного продукта реакций в планшетах (Orange scientific, Бельгия) на спектрофотометре EPOCH (BioTek Instruments, США).

Эритроциты из крови осаждали центрифугированием и трижды отмывали физиологическим раствором с последующим центрифугированием в течение 10 мин при 1500 об/мин, супернатант максимально удаляли, осадок эритроцитов использовали в опытах *in vitro* для оценки влияния солей лития на устойчивость эритроцитов к повреждающему действию этанола.



В серии экспериментов по изучению защитного действия соединений лития на эритроциты использовали карбонат лития (Sigma-Aldrich, Германия) в качестве препарата сравнения, поскольку эта соль является основой уже применяемых в психиатрии и наркологии лекарственных средств. Новые соли лития (аскорбат лития, фумарат лития, пируват лития, сукцинат лития) синтезированы в Исследовательской школе химических и биомедицинских технологий Томского политехнического университета, химический состав и чистота которых были подтверждены физико-химическими методами. Соли лития растворяли в физиологическом растворе (натрия хлорид 0,9%, стерильный, апиrogenный; НПК «ЭСКОМ», Россия) для получения стоковых растворов с удобной для дальнейших разведений концентрацией в ммоль/л в расчете на ион лития ( $\text{Li}^+$ ).

Мембранопротекторный эффект солей лития оценивали в опытах *in vitro* по устойчивости эритроцитов к гемолизу, индуцированному этанолом, с применением разработанной нами методики<sup>1</sup> несколько модифицированной. Осадок отмытых физиологическим раствором эритроцитов вносили в ряд пробирок, содержащих раствор этанола и определенный объем стоковых растворов исследуемых солей лития. Конечное разведение в пробах составило: осадка эритроцитов 1:10; этанола – 11%; концентрация для каждой соли лития – 1,2 ммоль/л в расчете на ион лития ( $\text{Li}^+$ ). Эта концентрация лития соотносится с терапевтической дозой при использовании в медицинской практике. К каждой опытной пробе ставили контрольные образцы, в которые вместо растворов солей лития вносили равный объем физиологического раствора; пробы инкубировали при 37 °С в течение 2,5 ч. После инкуба-

ции пробы центрифугировали, оптическую плотность супернатантов измеряли на спектрофотометре SHIMADZU при длине волны 450 нм. По соотношению оптических плотностей супернатантов опытной и контрольной проб рассчитывали величину гемолиза опытной пробы (в %), принимая оптическую плотность контрольной пробы за 100%.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ STATISTICA для Windows, версия 12.0. Описательная статистика представлена медианой (Me) и межквартильным интервалом (LQ–UQ). Для межгруппового сравнения использовали критерий Манна-Уитни. Корреляционный анализ проводили с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (rs). Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Результаты гематологического анализа образцов крови пациентов и здоровых лиц представлены в табл. 1.

Как видно из таблицы, практически все параметры эритроцитов, кроме MCV, у пациентов были существенно снижены по сравнению с контролем. Если в более ранней работе нами была обнаружена лишь тенденция к увеличению объема эритроцитов (MCV) у пациентов по сравнению с контролем [14], то в настоящем исследовании, при увеличении количества его участников как в основной, так и в контрольной группах, установлен высокий уровень статистической значимости различий по этому показателю между пациентами и здоровыми лицами ( $p = 0,0060$ ). В литературе большинство авторов отмечают снижение многих параметров красной крови и увеличение среднего значения объема эритроцитов (MCV) у лиц, злоупотребляющих алкоголем [10, 15]. Однако имеются сообщения об увеличении не только объема эритроцитов, но также и концентрации гемоглобина в эритроците

<sup>1</sup> Патент (ru) №2315605 С2. Способ повышения устойчивости эритроцитов к гемолизу, индуцированному этанолом. (Авт: Ветлугина Т.П., Жилов В.Х. Опубл. 27.01.2008 Бюл. №3).

Таблица 1

#### Характеристика красной крови больных алкоголизмом и здоровых лиц

Показатели	Me (QL–QU)		p
	Пациенты n = 59	Контроль n = 31	
Число эритроцитов (RBC), $10^{12}/л$	4,55 (4,33–4,91)	5,10 (4,89–5,34)	0,0001
Уровень гемоглобина (HGB), г/дл	14,90 (14,00–15,60)	16,10 (15,60–16,80)	0,0001
Гематокрит (HCT), %	42,60 (39,90–44,50)	44,30(43,40–46,20)	0,0024
Объем эритроцитов (MCV), мкм <sup>3</sup>	92,00 (87,00–97,00)	89,00(84,00–92,00)	0,0060
Концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/дл	35,10 (33,90–36,30)	36,20(36,00–36,50)	0,0003

Примечание. p – степень различия между группами.

(МСНС) [9, 16]. Причинами этих противоречий могут быть разные подходы к формированию групп обследования, взятие крови на анализ на различных этапах течения заболевания и пр. В нашей работе сформирована по возможности более однородная группа пациентов: в основную группу были включены только мужчины со сформировавшейся алкогольной зависимостью (группа контроля – также мужчины), забор крови у пациентов осуществляли на этапе синдрома отмены после алкогольной детоксикации.

Существенное влияние на нарушение показателей красной крови у больных алкоголизмом, оказывают, как уже отмечалось выше, факторы окислительного стресса. Для оценки уровня окислительного стресса в плазме крови было проведено измерение периферических маркеров ОС – окисленных белков (карбонил-белков, КБ) и продуктов ПОЛ (ТБК-реактивных продуктов, ТБК-РП), результаты которого представлены в **табл. 2**.

Установлено, что в группе пациентов концентрации КБ и ТБК-РП были статистически значимо выше, чем в контрольной группе.

Корреляционный анализ между гематологическими показателями и факторами окислительного стресса в группе пациентов выявил статистически значимую обратную зависимость средней концентрации ге-

моглобина в эритроците (МСНС) и концентрации карбонил-белков (**табл. 3**).

Такая зависимость, возможно, обусловлена повышением концентрации карбонил-белков и гликозилированного гемоглобина, уменьшением связанного с мембраной гемоглобина в эритроцитах лиц, злоупотребляющих алкоголем [17–19].

Нарушения параметров красной крови при алкоголизме, развитие окислительного стресса с увеличением продуктов окислительной модификации биомолекул, определяют необходимость поиска защитных средств эритроцитов от токсического действия этанола. Исследования по расширению спектра гемопротекторных средств активно ведутся. Применяются различные препараты растительного происхождения, витамины, пептидные биорегуляторы [20, 21]. Мембраностабилизирующий эффект препаратов в цитируемых работах, оцениваемый по увеличению устойчивости эритроцитов к гемолизу, в значительной степени обусловлен их антиоксидантной активностью. Важным является поиск защитных средств, обладающих комбинированным нормотимическим, антиоксидантным и мембранопротекторным действием. Потенциально такими средствами могут быть соли лития, ряд из которых обладает антиоксидантными свойствами [22, 23].

Таблица 2

**Факторы окислительного стресса в плазме крови больных алкоголизмом, Me (QL–QU)**

Показатели	Группы обследования		p
	Больные алкоголизмом n = 59	Контроль (здоровые лица) n = 38	
Карбонилы белков (КБ), нмоль/мл	0,44(0,36-0,51)	0,36 (0,28-0,43)	0,0003
ТБК-реактивные продукты (ТБК-РП), нмоль/мл	3,10(2,50-4,10)	2,45 (2,10-2,80)	0,0003

**Примечание.** p – степень различия между группами.

Таблица 3

**Коэффициенты корреляции Спирмена между гематологическими показателями и уровнем карбонил-белков плазмы крови больных алкоголизмом**

Гематологические показатели	Карбонилы белков (КБ), нмоль/мл	
	Коэффициент корреляции (ρ)	p
Число эритроцитов (RBC), 10 <sup>12</sup> /л	0,0559	0,7317
Уровень гемоглобина (HGB), г/дл	0,1705	0,2927
Гематокрит (HCT), %	0,2824	0,0773
Объем эритроцитов (MCV, мкм <sup>3</sup> )	0,3005	0,0594
Концентрация гемоглобина в эритроците (МСНС), г/дл	-0,3881	0,0133

**Примечание.** p – уровень статистической значимости показателя корреляции.

Были проведены эксперименты *in vitro* по изучению способности солей лития к защите эритроцитов от гемолизирующего действия этанола. Исследовали мембранопротекторный эффект новых солей лития (аскорбата лития, фумарата лития, пирувата лития, сукцината лития), в качестве препарата сравнения был использован карбонат лития. В этих экспериментах использовали эритроциты, выделенные из образцов крови 19 больных алкоголизмом. На рисунке представлены данные гемолиза эритроцитов в опытных пробах с солями лития. Уровень гемолиза выражали в процентах по отношению к гемолизу эритроцитов в контрольных образцах (физиологический раствор), принятому за 100%.

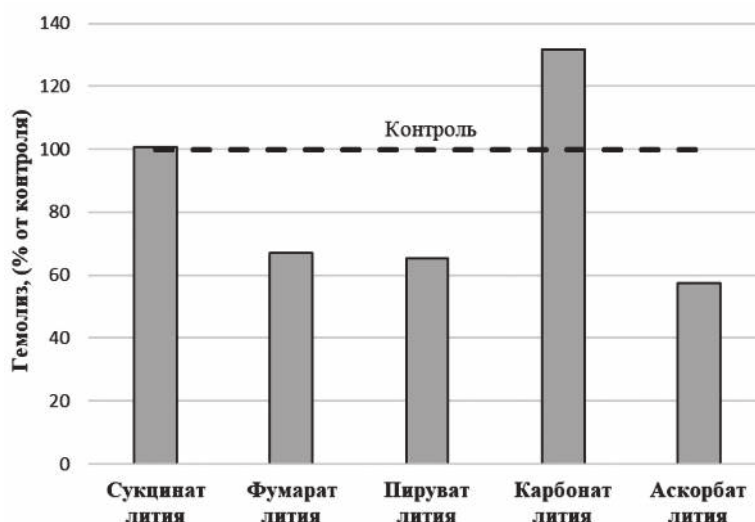
Установлено, что при инкубации эритроцитов с препаратом сравнения (карбонатом лития) уровень гемолиза был даже выше – 131,7(103,0; 203,0)%, чем в контрольных образцах с физиологическим раствором (100%). Величина гемолиза эритроцитов в пробах с сукцинатом лития составила 100,7 (86,3; 143,0)%,  $p = 0,0697$ ; с фумаратом лития 67,0 (62,2; 74,8)%,  $p = 0,0001$ ; с пируватом лития 65,3 (48,0; 77,3)%,  $p = 0,0004$ ; с аскорбатом лития 57,5 (50,9; 66,7)%,  $p = 0,0001$ .

Таким образом, фумарат лития, пируват лития и аскорбат лития, при концентрации, соотносящейся с терапевтической дозой по иону лития (1,2 ммоль/л), повышают устойчивость эритроцитов к гемолизирующему действию этанола в 1,5-1,7 раз.

Наблюдаемые нами мембранопротекторные эффекты солей лития хорошо согласуются с их антиоксидантной активностью, измеренной в модельной ре-

акции электровосстановления кислорода, протекающей на электроде. Показано, что аскорбат лития обладает наиболее выраженным антиоксидантным действием, фумарат лития несколько уступал по этому показателю аскорбату лития; карбонат лития практически не проявлял антиоксидантных свойств. [22, 23]. На клеточной модели мононуклеаров крови больных алкоголизмом обнаружены выраженные антиоксидантные и цитопротекторные свойства пирувата лития [24]. В тоже время в ряде работ выявлены не только анти-, но и прооксидантный эффекты солей лития в разных биологических системах [25, 26]. В наших экспериментальных условиях антиоксидантный компонент исследуемых солей лития может вносить существенный вклад в наблюдаемое повышение резистентности эритроцитов к токсическому действию этанола.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать следующее заключение: 1 – у больных алкоголизмом мужчин наблюдается снижение в крови средних показателей числа эритроцитов (RBC), уровня гемоглобина (HGB), гематокрита (HCT), концентрации гемоглобина в эритроците (MCHC) и повышение объема эритроцитов (MCV); 2 – значимое влияние на аномалию параметров красной крови оказывают факторы окислительного стресса, маркеры которого (карбонилы белков и ТБК-реактивные продукты) у больных алкоголизмом повышены по сравнению с показателями у здоровых мужчин; 3 – выявлена взаимосвязь между концентрацией гемоглобина в эритроците (MCHC) и концентрацией карбонилы белков в плазме крови па-



Влияние солей лития на устойчивость эритроцитов к гемолизу, индуцированному этанолом: % гемолиза эритроцитов к уровню гемолиза в контрольных образцах, принятому за 100%.

циентов; 4 – аскорбат лития, фумарат лития, пируват лития в опытах *in vitro* демонстрируют высокий мембранопротекторный эффект и повышают устойчивость эритроцитов к гемолизу, индуцированному этанолом; 5 – карбонат лития не оказывал защитного действия на эритроциты в используемой модели.

Исследуемые соли лития (аскорбат, фумарат, пируват) расширяют арсенал мембранопротекторных соединений, а сочетание с выявленным ранее антиоксидантным эффектом и нормотимическим действием лития повышает перспективы их применения для разработки импортозамещающих лекарственных средств лечения расстройств аффективного спектра.

### Литература

(п.п. 1-13; 15; 16; 19-23; 26 см. References)

14. Ветлугина Т.П., Савочкина Д.Н., Рошина О.В., Никитина В.Б., Мартыненко Л.И., Плотников Е.В. Показатели красной крови и Т-лимфоциты у больных алкоголизмом; защитный потенциал аскорбата лития. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2017; (12-2):272-6. URL: <http://www.applied-research.ru/ru/article/view?id=12033> DOI: 10.17513/mjpf.12033
17. Прокопьева В.Д., Дубинина Е.В., Молькина Л.Г., Ляшенко Г.П. Оценка уровня гликозилированного гемоглобина у больных алкоголизмом. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2006; (S):229-30. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=12791686>
18. Патышева Е.В., Прокопьева В.Д., Бохан Н.А. Влияние микроволновой резонансной терапии на белки и липиды эритроцитов и плазмы крови больных алкоголизмом. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2009; 148 (7): 46-8. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=15179195>
24. Епимахова Е.В., Лосенков И.С., Рошина О.В., Плотников Е.В. Оценка цитопротекторного и антиоксидантного действия пирувата лития на мононуклеары периферической крови больных алкоголизмом. *Вопросы наркологии*. 2018; 12 (171): 36-47. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=36806555>
25. Прокопьева В.Д., Ветлугина Т.П., Ярыгина Е.Г., Плотников Е.В., Бохан Н.А. Роль анионного компонента в проявлении эффектов органических солей лития на окислительную модификацию белков и липидов крови больных депрессивными расстройствами. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2020; 64(2): 13-20. doi: 10.25557/0031-2991.2020.02.13-20

### References

1. Bossi D., Giardina B. Red cell physiology. *Molecular Aspects Medicine*. 1996; 17(2): 117-28. [Indexed for MEDLINE].
2. Antunes R.F., Brandão C., Carvalho G., Girão C., Arosa FA. Red blood cells carry out T cell growth and survival bioactivities that are sensitive to cyclosporine A. *Cellular Molecular Life Sciences*. 2009; 66: 3387-98. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0119-y>.
3. Karsten E., Breen E., Herbert B.R. Red blood cells are dynamic reservoirs of cytokines. *Scientific Reports*. 2018; 8(1): 3101. doi: 10.1038/s41598-018-21387-w.
4. Bosman G.J. The involvement of erythrocyte metabolism in organismal homeostasis in health and disease. *Proteomics Clinical Application*. 2016; 10(8): 774-7. <https://doi.org/10.1002/prca.201500129>.

5. Francesca Rapido. The potential adverse effects of haemolysis. *Blood Transfusion*. 2017; 15(3): 218-21. <https://doi.org/10.2450/2017.0311-16>
6. Gurtovenko A.A., Anwar J. Interaction of ethanol with biological membranes: the formation of non-bilayer structures within the membrane interior and their significance. *J. Physics Chemical B*. 2009; 113(7): 1983-92. <https://doi.org/10.1021/jp808041z>
7. Maturu P., Vaddi D.R., Pannuru P., Nallanchakravarthula V. Modification of erythrocyte membrane proteins, enzymes and transport mechanisms in chronic alcoholics: an *in vivo* and *in vitro* study. *Alcohol and Alcoholism*. 2013; 48(6): 679-86. <https://doi.org/10.1093/alcac/agt071>
8. Koivisto H., Hietala J., Anttila P., Parkkila S., Niemelä O. Long-term ethanol consumption and macrocytosis: diagnostic and pathogenic implications. *J. Lab. Clin. Med.* 2006; 147(4): 191-6. <https://doi.org/10.1016/j.lab.2005.12.004>
9. Cylwik B., Naklicki M., Gruszevska E., Szmikowski M., Chrostek L. The distribution of serum folate concentration and red blood cell indices in alcoholics. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 2013; 59(1): 1-8. <https://doi.org/10.3177/jnsv.59.1>
10. Yokoyama A., Yokoyama T., Brooks P.J., Mizukami T., Matsui T., Kimura M., et al. Macrocytosis, macrocytic anemia, and genetic polymorphisms of alcohol dehydrogenase-1B and aldehyde dehydrogenase-2 in Japanese alcoholic men. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2014; 38(5): 1237-46. <https://doi.org/10.1111/acer.12372>
11. Prisciandaro J.J., Brown D.G., Brady K.T., Tolliver B.K. Comorbid anxiety disorders and baseline medication regimens predict clinical outcomes in individuals with co-occurring bipolar disorder and alcohol dependence: Results of a randomized controlled trial. *Psychiatry Research*. 2011; 188(3): 361-5. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2011.04.030>
12. Dell’Osso L., Del Grande C., Gesi C., Carmassi C., Musetti L. A new look at an old drug: neuroprotective effects and therapeutic potentials of lithium salts. *Neuropsychiatric Disease Treatment*. 2016; 12: 1687-703. <https://doi.org/10.2147/NDT.S106479>
13. Spijker A.T., van Zaane J., Koenders M.A., Hoekstra R., Kupka R.W. Bipolar disorder and alcohol use disorder: practical recommendations for treatment, based on a literature review. *Tijdschr. Psychiatr.* 2018; 60(2): 87-95. PMID: 29436699
14. Vетлугина Т.П., Савочкина Д.Н., Рощина О.В., Никитина В.Б., Мартыненко Л.И., Плотников Е.В. Indicators of red blood and t-lymphocytes in patients with alcoholism; protective potential of lithium ascorbate. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2017; (12-2): 272-6; URL: <http://www.applied-research.ru/ru/article/view?id=12033> <https://doi.org/10.17513/mjpf.12033> (in Russian)
15. Veda P. Evaluation of macrocytosis in routine hemograms. *Indian J. Hematol. Blood Transfus.* 2013; 29(1): 26-30. doi: 10.1007/s12288-011-0142-7
16. Pavanello S., Snenghi R., Nalesso A., Sartore D., Ferrara S.D., Montisci M. Alcohol drinking, mean corpuscular volume of erythrocytes, and alcohol metabolic genotypes in drunk drivers. *Alcohol*. 2012; 46(1): 61-8. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2011.08.009>
17. Prokopieva V.D., Dubinina E.V., Molkina L.G., Lyashenko G.P. Assessment of the level of glycosylated hemoglobin in alcoholic patients. *Sibirskiy vestnik psichiatrii i narkologii*. 2006; (S): 229-30. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=12791686> (in Russian)
18. Patisheva E.V., Prokopieva V.D., Bokhan N.A. Effect of microwave resonance therapy on proteins and lipids of red blood cells and blood plasma of alcoholic patients. *Bulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny*. 2009; 148(7): 46-8. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=15179195> (in Russian)

19. Demidchik L., Kolesnikova Y., Muravlyova L., Molotov-Luchanskiy V., Kluyev D., Bakirova R., et al. The Oxidized proteins and activity of the Cl<sup>-</sup>/HC3<sup>-</sup> exchanger in erythrocytes of patients with acute alcohol intoxication. *Acta Biochimica Polonica*. 2019; 66(3):351-4. [https://doi.org/10.18388/abp.2019\\_2812](https://doi.org/10.18388/abp.2019_2812)
20. Chukwurah P.N., Brisibe E.A., Osuagwu A.N., Okoko T. Protective capacity of *Artemisia annua* as a potent antioxidant remedy against free radical damage. *Asian. Pac. J. Trop. Biomed*. 2014; 4(1): S92-8. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C731>
21. Hasanein P., Mohammadi-Raighan P., Komaki A. Vitamins C and E alone and in combination partly protect against chronic ethanol-induced toxicity in rat erythrocytes. *Int. J. Vitam. Nutr. Res*. 2019; 89(3-4): 152-60. <https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000551>
22. Plotnikov E., Korotkova E., Voronova O., Dorozhko E., Bohan N., Plotnikov S. Lithium-based antioxidants: electrochemical properties and influence on immune cells. *Physiology and pharmacology*. 2015; 19: 107-13 ([http://phypha.ir/ppj/browse.php?a\\_code=A-10-846-1&slc\\_lang=en&sid=1](http://phypha.ir/ppj/browse.php?a_code=A-10-846-1&slc_lang=en&sid=1))
23. Plotnikov E., Korotkova E., Voronova O. Lithium salts of Krebs cycle substrates as potential normothymic antioxidant agents. *J. Pharm. Bioall. Sci*. 2018; 10: 240-5. [https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS\\_140\\_18](https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS_140_18)
24. Epimahova E.V., Losenkov I.S., Roshchina O.V., Plotnikov E.V. Evaluation of cytoprotective and antioxidant activities of lithium pyruvate on peripheral blood mononuclear cells from patients with alcohol addiction. *Voprosy narkologii*. 2018; 12(171): 36-47. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=36806555> (in Russian)
25. Prokopieva V.D., Vetlugina T.P., Yarygina E.G., Plotnikov E.V., Bohan N.A. Role of the anionic component in the manifestation of the effects of organic lithium salts on the oxidative modification of blood proteins and lipids in depressive disorders patients. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2020; 64(2): 13-20. (in Russian)
26. Kazmierczak-Baranska J., Boguszewska K., Adamus-Grabicka A., Karwowski B. Two faces of vitamin C – antioxidative and pro-oxidative agent. *Nutrients*. 2020; 12(5): 1501. <https://doi.org/10.3390/nu12051501>

#### Сведения об авторах:

**Ветлугина Тамара Парфеновна**, доктор биол. наук, проф., Заслуженный деятель науки РФ, вед. науч. сотр. лаб. клинической психонейроиммунологии и нейробиологии «НИИ психического здоровья» Томского НИМЦ, e-mail: vetlug@mail.tomsknet.ru;

**Прокотьева Валентина Даниловна**, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. клинической психонейроиммунологии и нейробиологии «НИИ психического здоровья» Томского НИМЦ, e-mail: valyaprok@mail.ru;

**Плотников Евгений Владимирович**, канд. хим. наук, ст. науч. сотр. отд-ния эндогенных расстройств «НИИ психического здоровья» Томского НИМЦ, e-mail: plotnikov.e@mail.ru;

**Ярыгина Екатерина Григорьевна**, канд. биол. наук, науч. сотр. лаб. клинической психонейроиммунологии и нейробиологии «НИИ психического здоровья» Томского НИМЦ, e-mail: yr.kat@mail.ru;

**Лебедева Валентина Федоровна**, доктор мед. наук, гл. врач клиники «НИИ психического здоровья» Томского НИМЦ, e-mail: niipz.klinika@mail.ru;

**Бохан Николай Александрович**, доктор мед. наук, проф., акад. РАН, Заслуженный деятель науки РФ, директор института, зав. отд-нием аддиктивных состояний, «НИИ психического здоровья» Томского НИМЦ, e-mail: mental@tnimc.ru

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-092:612.273.2:612.223.11-092.4

Трегуб П.П.<sup>1,2</sup>, Малиновская Н.А.<sup>1</sup>, Куликов В.П.<sup>2</sup>, Кузовков Д.А.<sup>1</sup>

## Гиперкапния и ее сочетание с гипоксией снижают проницаемость гематоэнцефалического барьера у крыс

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, 660022, Красноярск, Россия;

<sup>2</sup>ООО «Алтайский медицинский институт последипломного образования», 656043, Барнаул, Россия

**Цель исследования** – оценка проницаемости ГЭБ после сочетанного воздействия гиперкапнии и гипоксии.

**Методика.** Исследования проведены на 40 крысах-самцах Wistar рандомизированных на 4 равные группы ( $n=10$ ): нормобарическая гипоксия ( $P_{O_2} - 90$  мм рт. ст./13%;  $P_{CO_2} - 1$  мм рт. ст./0,1%); перmissive гиперкапния ( $P_{O_2} - 150$  мм рт. ст./21%;  $P_{CO_2} - 50$  мм рт. ст./7%); гиперкапническая гипоксия ( $P_{O_2} - 90$  мм рт. ст./13%;  $P_{CO_2} - 50$  мм рт. ст./7%); контрольная группа ( $P_{O_2} - 150$  мм рт. ст./21%;  $P_{CO_2} - 1$  мм рт. ст./0,1%). Респираторные воздействия проводили в специальной камере в течение 15 сут по 30 мин ежедневно. Газовую смесь подавали в камеру компрессором со скоростью 15 л/мин. Контроль газового состава в камере проводили газоанализатором Microlux (Микролюкс, Россия). Через 24 ч после завершения курсов респираторных воздействий животным внутрибрюшинно вводили 2%-й раствор красителя Evans blue в объеме 4 мл/кг массы животного. Оценку проницаемости ГЭБ осуществляли через 24 ч после введения красителя путем фотометрического измерения его содержания в плазме крови и флуоресцентной микроскопии ткани головного мозга. Анализ интенсивности флуоресценции Evans blue в ткани головного мозга проводился на конфокальном микроскопе FV10i-W (Olympus, Япония). Определяли флуоресцентную интегративную оптическую плотность Evans blue с последующим расчетом индекса проницаемости по концентрации красителя в крови. Определение содержания красителя в крови осуществляли фотометрически (при 610 нм) с использованием планшетного фотометра Multiscan FS (Thermo scientific, США) по калибровочным кривым.

**Результаты.** Индекс проницаемости ГЭБ (содержание в мозге/концентрация в крови) был существенно ниже в группах, которые подвергались респираторным воздействиям с наличием гиперкапнического компонента.

**Заключение.** Интермиттирующая гиперкапническая гипоксия формирует наименьший уровень проницаемости ГЭБ по сравнению с изолированным воздействием гипоксии или гиперкапнии.

**Ключевые слова:** гематоэнцефалический барьер; проницаемость; нейропротекция; гипоксия; гиперкапния

**Для цитирования:** Трегуб П.П., Малиновская Н.А., Куликов В.П., Кузовков Д.А., Гиперкапния и ее сочетание с гипоксией снижают проницаемость гематоэнцефалического барьера у крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(2): 30-36.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.30-36

**Для корреспонденции:** Трегуб Павел Павлович, e-mail: pfiza\_asmu@mail.ru

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Трегуб П.П., Малиновская Н.А., Куликов В.П.; сбор и обработка материала – Трегуб П.П., Малиновская Н.А., Кузовков Д.А.; написание текста – Трегуб П.П., Малиновская Н.А., Куликов В.П.; редактирование – Кузовков Д.А.

**Финансирование.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-75-00016)

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарность.** Авторы выражают благодарность профессору А.Б. Салминой за помощь в выполнении этого исследования.

Поступила 20.03.2020

Принята к печати 25.03.2021

Опубликована 30.06.2021

Tregub P.P.<sup>1,2</sup>, Malinovskaya N.A.<sup>1</sup>, Kulikov V.P.<sup>2</sup>, Kuzovkov D.A.<sup>1</sup>

## Hypercapnia and its combination with hypoxia decrease the permeability of the blood-brain barrier in rats

<sup>1</sup>V.F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, Partizan Zheleznyak St. 1, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation;

<sup>2</sup>Altai Medical Institute of Postgraduate Education, LLC, Polzunova St. 34a, Barnaul 656043, Russian Federation

The **aim** of study was to evaluate the blood-brain barrier (BBB) permeability after a combined treatment with hypercapnia and hypoxia.

**Methods.** Experiments were performed on 40 Wistar male rats randomized to 4 equal groups ( $n=10$ ): normobaric hypoxia ( $P_{O_2} = 90$  mm Hg/13%/ $P_{CO_2} = 1$  mm Hg/0.1%  $CO_2$ ), permissive hypercapnia ( $P_{O_2} = 150$  mm Hg/21%;  $P_{CO_2} = 50$  mm Hg/7%); hypercapnic hypoxia ( $P_{O_2} = 90$  mm Hg/13%,  $P_{CO_2} = 50$  mm Hg/7%); and a control group ( $P_{O_2} = 150$  mm Hg/21%;  $P_{CO_2} = 1$  mm Hg/0.1%) in a special chamber for 15 days, 30 min daily. The gas mixture was delivered to the chamber with a compressor at 15 l/min. Gas composition was monitored with a gas analyzer (Microlux, Russia). At 24 hrs after completion of respiratory exposures, Evans blue dye was administered i.p. (4 ml/kg body weight). BBB permeability was assessed from the content of Evans blue dye in blood plasma photometrically and in brain tissue by fluorescent microscopy. Evans blue fluorescence intensity in brain tissue was analyzed with a confocal microscope FV10i-W (Olympus, Japan). Fluorescent integrative optical density of Evans blue was determined and used for calculation of the permeability index from blood concentration of the dye. Blood concentration of the dye was measured photometrically (at 610 nm) with a plate photometer Multiscan FS (Thermo Scientific, USA) using calibration curves.

**Results.** The BBB permeability index (content of Evans blue dye in the brain / concentration of Evans blue dye in blood) was significantly lower in the groups that underwent respiratory exposures with the presence of a hypercapnic component. **Conclusion.** Intermittent hypercapnic hypoxia yields the lowest BBB permeability compared to the isolated effect of either hypoxia or hypercapnia.

**Keywords:** blood-brain barrier; permeability; neuroprotection; hypoxia; hypercapnia

**For citation:** Tregub P.P., Malinovskaya N.A., Kulikov V.P., Kuzovkov D.A. Hypercapnia and its combination with hypoxia decrease the permeability of the blood-brain barrier in rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(2): 30-36. (in Russian).

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2021.02.30-36

**For correspondence:** Pavel P. Tregub, PhD, Principal Researcher, Scientific Research Institution of molecular medicine and pathobiochemistry; Partizan Zheleznyak st., 1, 660022, Krasnoyarsk, Russian Federation, e-mail: pfiza\_asmu@mail.ru

**Contribution:** study concept and design – Tregub P.P., Malinovskaya N.A., Kulikov V.P.; collection and treatment of materials – Tregub P.P., Malinovskaya N.A., Kuzovkov D.A.; text writing – Tregub P.P., Malinovskaya N.A., Kulikov V.P.; editing – Kuzovkov D.A.

**Financing.** The study was carried out with a grant from the Russian Science Foundation (project No. 18-75-00016).

**Acknowledgments.** We wish to thank Prof. Alla Salmina for great help in the work on this study.

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

#### Information about the authors:

Tregub P.P., <https://orcid.org/0000-0002-3650-6121>

Malinovskaya N.A., <https://orcid.org/0000-0002-0033-3804>

Kulikov V.P., <https://orcid.org/0000-0003-4869-5465>

Kuzovkov D.A., <https://orcid.org/0000-0002-3981-3354>

Received 20.03.2020

Accepted 25.03.2021

Published 30.06.2021

## Введение

Гиперкапния, а особенно, ее сочетание с дефицитом кислорода, обладают превосходящим гипоксию эффектом повышения толерантности головного мозга к ишемии [1]. Однако, в настоящее время, механизмы и сигнальные пути нейропротекторной эффективности гиперкапнии и ее сочетания с гипоксией остаются малоизученными.

Нарушение целостности ГЭБ с последующим вазогенным отеком является ранним и важным признаком ишемического повреждения мозга и выступает в роли предвестника неблагоприятного исхода [2, 3]. Вместе с этим сохранение целостности ГЭБ является важным нейропротекторным звеном в механизме формирования ишемической толерантности головного мозга [4–6].

Известно, что гипоксическое preconditionирование способствует защите ГЭБ при церебральной ишемии посредством регуляции функционального бел-

ка сфингозинкиназы-2 и модуляции белков плотного соединения в условиях гипоксии *in vitro* [7]. Также, имеются данные о положительном влиянии пермиссивной гиперкапнии на целостность ГЭБ при травматическом повреждении головного мозга [8]. **Цель исследования** – оценка проницаемости ГЭБ после сочетанного воздействия гиперкапнии и гипоксии.

## Методика

Работа проводилась в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г.). Протокол исследования одобрен биоэтической комиссией локального этического комитета КрасГМУ. Опыты проводились на 40 крысах-самцах Wistar (Институт Цитологии и Генетики РАН, Новосибирск, Россия), средней массой 250-300 г, которые были рандомизированы на 4 равные группы

( $n=10$ ). Крысы находились в клетках при комнатной температуре 23 °С, естественном освещении и свободном доступе к воде и пище. До и после экспериментов животные взвешивались.

Респираторные воздействия у крыс проводились в специальной камере в течение 15 дней по 30 мин ежедневно [1]. Газовая смесь подавалась в камеру компрессором со скоростью 15 л/мин. Для поддержания равномерного давления в камере имелись выпускные отверстия, соединенные шлангом с емкостью, наполненной водой. Это предотвращало обратную диффузию газов в камеру. Контроль газового состава в камере производился газоанализатором Microlux (Микролюкс, Россия). Экспериментальные группы животных дышали газовой смесью, состав которой зависел от назначения группы: группа NbH (нормобарическая гипоксия:  $P_{O_2} - 90$  мм рт. ст./13%;  $P_{CO_2} - 1$  мм рт. ст./0,1%); группа PermH (пермиссивная гиперкапния:  $P_{O_2} - 150$  мм рт. ст./21%;  $P_{CO_2} - 50$  мм рт. ст./7%); группа HureH (гиперкапническая гипоксия:  $P_{O_2} - 90$  мм рт. ст./13%;  $P_{CO_2} - 50$  мм рт. ст./7%); контрольная группа ( $P_{O_2} - 150$  мм рт. ст./21%;  $P_{CO_2} - 1$  мм рт. ст./0,1%), в которой животные подвергались всем экспериментальным процедурам, за исключением изменения газового состава атмосферного воздуха во время респираторных воздействий.

Через 24 ч после завершения курсов респираторных воздействий животным внутрибрюшинно вводился 2% раствор красителя Evans blue, в объеме 4 мл/кг массы животного [9]. Оценка проницаемости ГЭБ проводилась путем фотометрического измерения содержания красителя в плазме крови и флуоресцентной микроскопии ткани головного мозга через 24 ч после его внутрибрюшинного введения.

Животные перед декапитацией подвергались транскардиальной перфузионной фиксации (введение 500 мл PBS, а затем 250 мл 4% PBS-буференного параформальдегида) под анестезией хлоралгидратом (400 мг/кг, внутрибрюшинно). После перфузионной фиксации головной мозг извлекался, с последующим хранением в течение 2 сут в растворе 30% сахарозы. Затем головной мозг секционировался на вибротоме (толщина фронтальных срезов 60 мкм). Секционированные срезы индивидуально переносились в культуральные 24-луночные планшеты. После промывки раствором PBS срезы переносились на предметные стекла, после чего на них наносился флюоромаунт с добавлением 4,6-диамидино-2-фенилиндола (DAPI) и покровные стекла. Анализ интенсивности флуоресценции Evans blue в ткани головного мозга проводил-

ся на конфокальном микроскопе FV10i-W (Olympus, Япония) при 650 нм. Микрофотографии обрабатывались при помощи программы ImageJ 1,41 (Scion Inc., США). Определялась флуоресцентная интегративная оптическая плотность Evans blue с последующим расчетом индекса проницаемости по концентрации красителя в крови [10].

Перед началом транскардиальной перфузии у крыс из левого желудочка сердца шприцем (с 10 мкл 10% раствора ЭДТА) забирали 200 мкл крови. Кровь центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об/мин и замораживали до проведения анализа при -20 °С. После размораживания к крови добавляли такой же объем 50% ТХУ, инкубировали ночь при 4 °С, центрифугировали (30 мин при 13 000 об/мин, 4 °С). Определение содержания красителя в крови осуществляли фотометрически (при 610 нм) с использованием планшетного фотометра Multiscan FS (Thermo scientific, США) по калибровочным кривым.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с применением пакетов программ «StatPlus 2010 10.0.1011.0» (AnalystSoft Inc., США), Microsoft Excel 2013 (Microsoft, США). Количественные данные представлены в виде медианы (Me), нижнего квартиля (25%) и верхнего квартиля (75%), максимального и минимального значений. Переменные в независимых группах сравнивались по критерию Манна-Уитни. Различия принимали как статистически достоверные при вероятности ошибки  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Измерение концентрации Evans blue в плазме крови (**рис. 1**) показало, что у крыс, которые подвергались сочетанному воздействию гиперкапнии и гипоксии, концентрация красителя была выше в 7,4 раза по отношению к группе контроля. При этом содержание красителя в плазме крови у животных из контрольной группы было сопоставимым с данными других исследователей [8, 10].

Интегративная оценка флуоресценции Evans blue в ткани головного мозга продемонстрировала, что увеличение оптической плотности относительно контрольных значений произошло только в группе гиперкапнической гипоксии и составило 26% (**рис. 2**).

После расчета индекса проницаемости (**рис. 3**), который более точно характеризует проницаемость/целостность ГЭБ, обнаружилось его существенное снижение в группах, которые подвергались респираторным воздействиям с присутствием гиперкапнического компонента. Так, в группе пермиссивной гиперкапнии индекс проницаемости был ниже в 2 раза ( $p < 0,001$ ),



а в группе гиперкапнической гипоксии почти в 6 раз по сравнению с контрольной группой.

Примечательно то, что гиперкапнический компонент стимулировал поддержание концентрации красителя Evans blue в плазме крови на повышенном уровне даже спустя 24 ч после его внутрибрюшинного введения, в то время как показатели группы нормобарической гипоксии практически не отличались от контрольных значений. При этом, оптическая плотность

красителя, измеренная в ткани головного мозга, также была повышенной у крыс из группы гиперкапнической гипоксии (рис. 4). Данные факты, вероятно, связаны со стимуляцией ангиогенеза при гиперкапнически-гипоксических тренировках [1], а также с влиянием CO<sub>2</sub> и ацидоза на сужение резистивных артериол периферических органов и дилатацию артериол миокарда и мозга [11]. На этом фоне, умеренное повышение содержания красителя в ткани мозга в группе гиперкап-

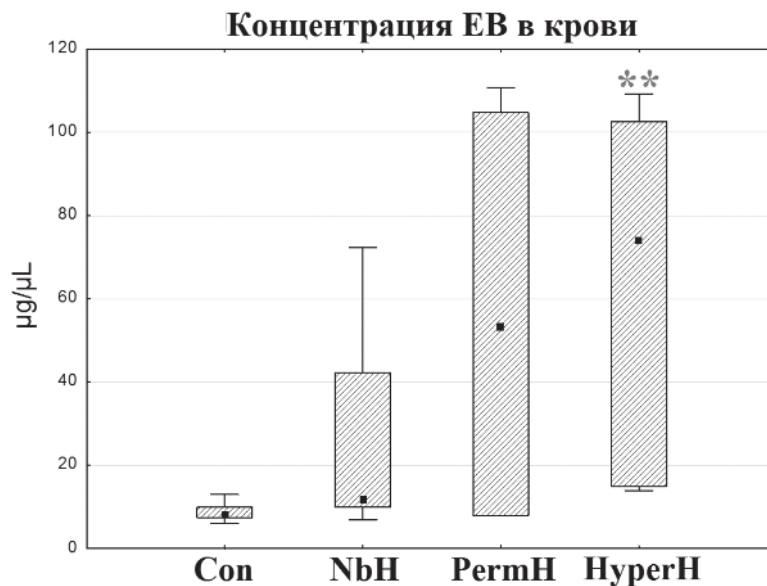


Рис. 1. Концентрация Evans blue в крови, мкг/мл. \*\* –  $p < 0,001$ . Con=контрольная группа; NbH=нормобарическая гипоксия; PermH=пермиссивная гиперкапния; HyperH=гиперкапническая гипоксия.

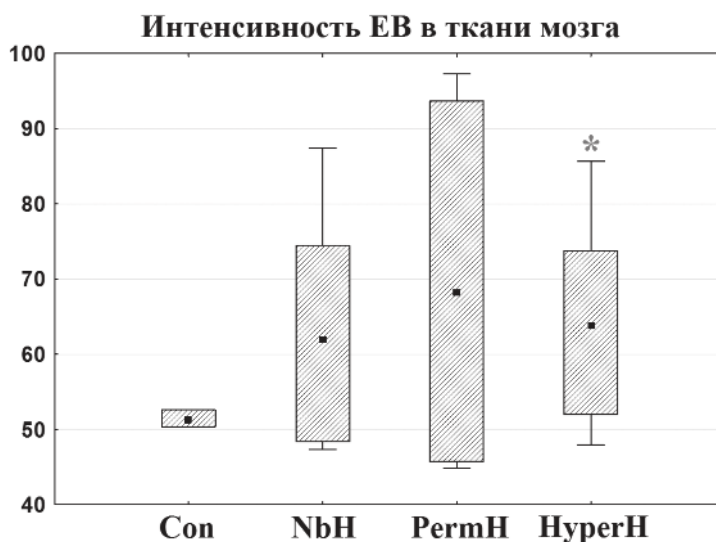
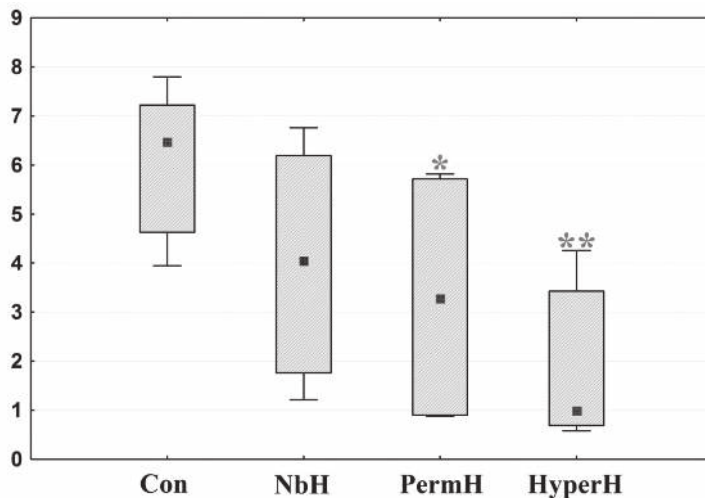
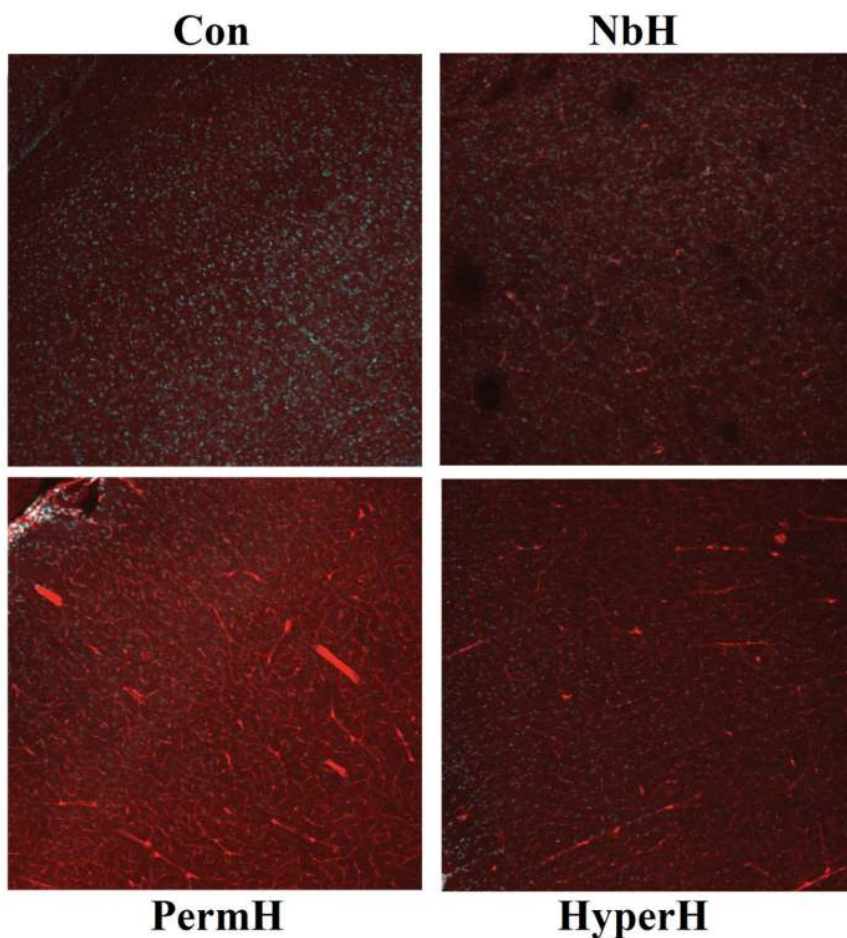


Рис. 2. Оптическая плотность Evans blue в ткани мозга. \* –  $p < 0,05$ ; Con=контрольная группа; NbH=нормобарическая гипоксия; PermH=пермиссивная гиперкапния; HyperH=гиперкапническая гипоксия.



**Рис. 3.** Проницаемость гематоэнцефалического барьера. Индекс проницаемости ГЭБ для Evans blue, выраженный как оптическая плотность красителя в ткани мозга/концентрация красителя в крови. \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,001$ . Con=контрольная группа; NbH=нормобарическая гипоксия; PermH=пермиссивная гиперкапния; HyperH=гиперкапническая гипоксия.



**Рис. 4.** Микрофотографии срезов коры головного мозга крыс. Ув. 250. Конфокальная микроскопия. Синий цвет – DAPI; красный цвет – флуоресценция Evans blue. Con=контрольная группа; NbH=нормобарическая гипоксия; PermH=пермиссивная гиперкапния; HyperH=гиперкапническая гипоксия.

нической гипоксии более объективно рассматривать в контексте индекса проницаемости ГЭБ, который учитывает содержание красителя и в плазме крови и в головном мозге.

Эти результаты свидетельствуют в пользу того, что снижение проницаемости ГЭБ является одним из вероятных механизмов формирования ишемической толерантности головного мозга после интермиттирующего воздействия гиперкапнии (в т. ч. при ее сочетании с гипоксией). В пользу нейропротекторной эффективности этого механизма также выступают результаты W. Yang и соавт., которые демонстрируют положительное влияние 3-часовой пермиссивной гиперкапнии (80 и 100 ммHg) на целостность ГЭБ при травматическом повреждении головного мозга [8].

Вероятными сигнальными путями снижения проницаемости ГЭБ после интермиттирующего воздействия гиперкапнии и гиперкапнической гипоксии могут выступать усиление пролиферации эндотелиальных клеток [12] супрессия аквапорина-4 и ингибирование апоптоза [13].

Снижение проницаемости ГЭБ в результате гипоксического пре кондиционирования в дальнейшем, как правило, оказывает защитный эффект на его целостность в условиях ишемического повреждения [6]. Ряд авторов связывает это с модуляцией белков плотных соединений сфингозинкиназой-2 [7], окклюдина и ZO-1 [8]. Вместе с этим, известно, что гипоксическое пре кондиционирование ингибирует адгезию нейтрофилов к эндотелиальным клеткам [14], а повышение уровня HIF-1 $\alpha$  стимулирует пролиферацию эндотелиоцитов ГЭБ [3]. Эти факторы также должны благоприятно способствовать функционированию ГЭБ в условиях ишемии.

Важно отметить, что, имеются и данные относительно отрицательного влияния гипоксического пре кондиционирования на целостность ГЭБ. Так, O. Chi и соавт. продемонстрировали, что гипоксическое пре кондиционирование усиливает разрушение ГЭБ посредством VEGF-сигнального пути, что предполагает возможность усугубления отека мозга при церебральной ишемии [15]. Однако, авторы в указанной работе концентрировались на кратковременных (1 ч) вазогенных эффектах гипоксического пре кондиционирования и их влияния на проницаемость ГЭБ, отождествляя их с характеристиками его целостности.

Учитывая, что сочетанное воздействие интермиттирующей гиперкапнии и гипоксии сформировало наименьший уровень проницаемости ГЭБ, можно предположить, что оба эти компонента оказывают влияние на этот нейропротекторный механизм, активируя разные сигнальные пути.

## Литература (п.п. 1; 2; 4-10; 13-15 см. References)

3. Кувачева Н.В., Моргун А.В., Хиляжева Е.Д., Бойцова Е.Б., Рузаева В.А., Шуваев А.Н. и др. Особенности пролиферации клеток гематоэнцефалического барьера при подавлении активности HIF-1 in vitro. *Сибирское медицинское обозрение*. 2016; 98(2): 51-6.
11. Куликов В.П., Кузнецова Д.В., Заря А.Н. Цереброваскулярная и кардиоваскулярная CO<sub>2</sub>-реактивность в патогенезе артериальной гипертензии. *Артериальная Гипертензия*. 2017; 23(5): 433-46.
12. Трегуб П.П., Моргун А.В., Осипова Е.Д., Куликов В.П., Малиновская Н.А., Кузовков Д.А. Гиперкапния и гипоксия усиливают пролиферацию астроцитов и нейронов in vitro. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2020; 169(6): 695-9.

## References

1. Tregub P., Kulikov V., Motin Y., Bepalov A., Osipov I. Combined exposure to hypercapnia and hypoxia provides its maximum neuroprotective effect during focal ischemic injury in the brain. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2015; 24(2): 381-7.
2. Latour L.L., Kang D.W., Ezzeddine M.A., Chalela J.A., Warach S. Early blood-brain barrier disruption in human focal brain ischemia. *Ann Neurol*. 2004; 56: 468-77.
3. Kuvacheva N.V., Morgun A.V., Khilazheva E.D., Boytsova E.B., Ruzaeva V.A., Shuvaev A.N., et al. Features of proliferation of blood-brain barrier cells upon suppression of HIF-1 activity in vitro. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie*. 2016; 98(2): 51-6. (in Russian)
4. Masada T., Hua Y., Xi G., Ennis S.R., Keep R.F. Attenuation of ischemic brain edema and cerebrovascular injury after ischemic preconditioning in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2001; 21: 22-33.
5. Zhang F.Y., Chen X.C., Ren H.M., Bao W.M. Effects of ischemic preconditioning on blood-brain barrier permeability and MMP-9 expression of ischemic brain. *Neurol Res.* 2006; 28: 21-4.
6. Obrenovitch T.P. Molecular Physiology of Preconditioning-Induced Brain Tolerance to Ischemia. *Physiol Rev.* 2008; 88: 211-47.
7. Wacker B.K., Freie A.B., Perfater J.L., Gidday J.M. Junctional protein regulation by sphingosine kinase 2 contributes to blood-brain barrier protection in hypoxic preconditioning-induced cerebral ischemic tolerance. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2012; 32(6): 1014-23.
8. Yang W., Wang Q., Chi, L., Wang Y.-Z., Cao H.-L., Li W.-Z. Therapeutic hypercapnia reduces blood-brain barrier damage possibly via protein kinase C $\epsilon$  in rats with lateral fluid percussion injury. *J Neuroinflamm.* 2019; 16: 36.
9. Manaenko A., Chen H., Kammer J., Zhang J.H., Tang J. Comparison Evans Blue Injection Routes: Intravenous vs. Intraperitoneal, for Measurement of Blood-Brain Barrier in a Mice Hemorrhage Model. *J Neurosci Methods.* 2011; 195(2): 206-10.
10. Xu Y., He Q., Wang M., Wang X., Gong F., Baic L., et al. Quantifying blood-brain-barrier leakage using a combination of evans blue and high molecular weight FITC-Dextran. *J Neurosci Methods.* 2019; 325: 108349.
11. Kulikov V.P., Kuznecova D.V., Zarja A.N. Cardiovascular and cerebrovascular CO<sub>2</sub>-reactivity in the pathogenesis of hypertension. *Arterial'naya Gipertenziya*. 2017; 23(5): 433-6. (in Russian)
12. Tregub P.P., Morgun A.V., Osipova E.D., Kulikov V.P., Malinovskaya N.A., Kuzovkov D.A. Hypercapnia and hypoxia enhance the proliferation of astrocytes and neurons in vitro. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2020; 169(6): 695-9. (in Russian)

13. Yang W., Zhang X., Wang N., Tan J., Fang X., Wang Q., et al. Effects of acute systemic hypoxia and hypercapnia on brain damage in a rat model of hypoxia-ischemia. *PLoS One*. 2016; 11: e0167359.
14. Zhou S.G., Lei X.Y., Liao D.F. Effects of hypoxic preconditioning on the adhesion of neutrophils to vascular endothelial cells induced by hypoxia/reoxygenation. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2003; 15: 159–62.
15. Chi O.Z., Mellender S.J., Barsoum S., Liu X., Weiss H.R. Hypoxic Preconditioning Increases Blood-Brain Barrier Disruption in the Early Stages of Cerebral Ischemia. *Curr Neurovasc Res*. 2017; 14(1): 26-31.

**Сведения об авторах:**

**Трегуб Павел Павлович**, канд. мед. наук, заместитель директора по науке ООО «Алтайский медицинский институт последипломного образования»; науч. сотр. ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, e-mail: pfiza\_asmu@mail.ru;

**Малиновская Наталия Александровна**, доктор мед. наук, доцент, науч. сотр. ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, e-mail: malinovskaya-na@mail.ru;

**Куликов Владимир Павлович**, доктор мед. наук, проф., директор ООО «Алтайский медицинский институт последипломного образования», e-mail: kulikov57@mail.ru;

**Кузовков Дмитрий Андреевич**, клинический ординатор ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, e-mail: 79833749139k@gmail.com

© Коллектив авторов, 2021

УДК 612.438:616-006.66:616-085:616-089:616-092.9

Казаков О.В.<sup>1</sup>, Повещенко А.Ф.<sup>1,2</sup>, Кабаков А.В.<sup>1</sup>, Повещенко О.В.<sup>1</sup>, Стрункин Д.Н.<sup>1</sup>, Лыков А.П.<sup>1</sup>,  
Коненков В.И.<sup>1</sup>

## Сравнение влияния оперативного лечения и химиотерапии на структуру тимуса при экспериментальном раке молочной железы

<sup>1</sup>«НИИ клинической и экспериментальной лимфологии» – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»,

630060, Новосибирск, Россия, ул. Тимакова, д. 2;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет»,

630126, Новосибирск, Россия, ул. Вилюйская, д. 28

**Цель исследования** – выявление структурных преобразований тимуса самок крыс Вистар при хирургическом лечении рака молочной железы и при химиотерапии.

**Методика.** Рак молочной железы (РМЖ) индуцировали введением N-метил-N-нитрозомочевины 5 раз с интервалом 7 сут подкожно в область 2-й молочной железы справа. Оперативное лечение РМЖ проводили через 6 мес от момента индукции РМЖ. Курс химиотерапии проводили по схеме СМФ. Гистологическое исследование тимуса и опухоли молочной железы проводили по стандартной методике. Методом точечного счёта производили морфометрию срезов и подсчет клеточных элементов в опухоли и структурно-функциональных зонах тимуса.

**Результаты.** При РМЖ без лечения выявлены структурные признаки акцидентальной инволюции тимуса. После оперативного лечения РМЖ акцидентальная инволюция тимуса менее выражена по сравнению с химиотерапией. После оперативного лечения РМЖ, как и в группе РМЖ без лечения, в тимусе сохраняется уменьшение площади коркового вещества. По сравнению с РМЖ без лечения в тимусе уменьшалась площадь железистых эпителиальных образований, увеличилась плотность расположения клеточных элементов в корковом веществе. В структурных зонах тимуса увеличивалось количество макрофагов, снижалось количество клеток с пикнотичными ядрами. После химиотерапии, по сравнению с резекцией опухоли МЖ, в тимусе выявлены структурные признаки прогрессирования процесса инволюции. В тимусе уменьшена площадь соединительно-тканых элементов, снижено количество митозов в субкапсулярной зоне коркового вещества. Во всех исследуемых зонах увеличено количество клеток с пикнотичными ядрами и уменьшено число макрофагов.

**Заключение.** После оперативного лечения РМЖ акцидентальная инволюция тимуса проявляется в менее выраженной форме, чем в группе с РМЖ без лечения. После химиотерапии РМЖ, по сравнению с оперативным лечением РМЖ, морфологические перестройки в тимусе свидетельствуют о снижении активности лимфоидного и эпителиального компонентов и увеличении числа гибнущих клеток.

**Ключевые слова:** вилочковая железа; рак молочной железы; терапевтические мероприятия; оперативное лечение; опыты на животных

**Для цитирования:** Казаков О.В., Повещенко А.Ф., Кабаков А.В., Повещенко О.В., Стрункин Д.Н., Лыков А.П., Коненков В.И. Сравнение влияния оперативного лечения и химиотерапии на структуру тимуса при экспериментальном раке молочной железы. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(2): 37-43.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.37-43

**Для корреспонденции:** Казаков Олег Васильевич, e-mail: kazakoff\_oleg@mail.ru

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования, написание текста – Казаков О.В., Повещенко А.Ф.; сбор и обработка материала – Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко О.В.; статистическая обработка – Лыков А.П., Стрункин Д.Н.; редактирование – Коненков В.И. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи — все соавторы.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 04.06.2020

Принята к печати 25.03.2021

Опубликована 30.06.2021

Kazakov O.V.<sup>1</sup>, Poveshchenko A.F.<sup>1,2</sup>, Kabakov A.V.<sup>1</sup>, Poveshchenko O.V.<sup>1</sup>, Strunkin D.N.<sup>1</sup>, Lykov A.P.<sup>1</sup>, Konenkov V.I.<sup>1</sup>

## Comparing the effects of surgical treatment and chemotherapy on the thymus structure in experimental breast cancer

<sup>1</sup>Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Division of the Russian Academy of Sciences,

Timakova St. 2, Novosibirsk 630060, Russian Federation;

<sup>2</sup>Novosibirsk State Pedagogical University,

Vilyuiskaya St. 28, Novosibirsk 630126, Russian Federation

**Aim.** To identify structural changes in the thymus of female Wistar rats during surgical treatment of breast cancer or with chemotherapy.

**Methods.** Breast cancer (BC) was induced by subcutaneous injection of N-methyl-N-nitrosourea into the second right breast 5 times at 7 day intervals. Resection of BC was performed 6 mos after BC induction, or chemotherapy was administered according to the CMF scheme. Histological examination of the thymus and breast tumor was performed according to a standard method. Morphometric study of sections and counting cell elements in the tumor and in structural and functional areas of the thymus were performed by point counting.

**Results.** In untreated BC, structural signs of accidental thymus involution were evident. There was an increase in the area of connective tissue elements and of glandular epithelial tumors. After surgical treatment of BC, accidental thymus involution was less pronounced than after chemotherapy. Also after surgical treatment, as in the case of untreated BC, the thymus cortical substance remained decreased. Compared with untreated BC, the area of glandular epithelial tumors in the thymus decreased, and the density of cellular elements in the cortical substance increased. In the structural zones of the thymus, the number of macrophages increased, and the number of cells with pyknotic nuclei decreased. After chemotherapy, in comparison with surgical treatment, structural signs of involution of the thymus were evident. In the thymus, the area of connective tissue elements was reduced, and the number of mitotically dividing cells in the subcapsular zone of the cortical substance was reduced. In all the zones of the thymus, the number of cells with pyknotic nuclei increased, and the number of macrophages decreased.

**Conclusion.** After surgical treatment of BC, accidental thymus involution was less pronounced than in the untreated group. After chemotherapy, compared with surgical treatment of BC, morphological changes in the thymus may indicate a decrease in the activity of the lymphoid and epithelial components and an increase in the number of dying cells.

**Keywords:** thymus; breast cancer; therapeutic measures; surgical treatment; animal experiments

**For citation:** Kazakov O.V., Poveshchenko A.F., Kabakov A.V., Poveshchenko O.V., Strunkin D.N., Lykov A.P., Konenkov V.I. Comparing the effects of surgical treatment and chemotherapy on the thymus structure in experimental breast cancer. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(2): 37-43. (in Russian).

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2021.02.37-43

**For correspondence:** **Oleg V. Kazakov**, candidate of biological sciences, leading researcher, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Division of the Russian Academy of Sciences, Timakova St. 2, Novosibirsk 630060, Russian Federation, e-mail: kazakoff\_oleg@mail.ru

**Contribution:** study concept and design, text writing – Kazakov O.V., Poveshchenko A.F.; collection and treatment of materials – Kazakov O.V., Kabakov A.V., Poveshchenko O.V.; statistics – Strunkin D.N., Lykov A.P.; editing – Konenkov V.I.

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

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

### Information about the authors:

Kazakov O.V., <http://orcid.org/0000-0003-3947-4038>

Poveshchenko A.F., <http://orcid.org/0000-0002-4433-7110>

Kabakov A.V., <http://orcid.org/0000-0002-4741-6674>

Poveshchenko O.V., <http://orcid.org/0000-0001-9956-0056>

Strunkin D.N., <http://orcid.org/0000-0003-4357-7443>

Lykov A.P., <http://orcid.org/0000-0003-4897-8676>

Konenkov V.I., <http://orcid.org/0000-0001-7385-6270>

Received 04.06.2020

Accepted 25.03.2021

Published 30.06.2021

Химически индуцированный рак молочной железы (РМЖ) имеет много общего с РМЖ у человека [1, 2]. В литературе отмечается большое количество работ по изучению морфологии тимуса при опухолевом росте и действии цитотоксических препаратов [3, 4]. Морфофункциональный статус тимуса после оперативного лечения химически индуцированного РМЖ и после химиотерапии (ХТ), которые влияют на уже имеющийся дисбаланс в иммунной системе организма, можно рассматривать в качестве маркера средового прессинга на центральный лимфоидный орган. От структурного состояния тимуса зависит поддержание гомеостаза в организме и обеспечение стабильности его антигенных структур. Данное исследование может иметь прогностическое значение для понимания действия известных и новых противоопухолевых цитостатических препаратов.

Цель исследования – сравнение структурных преобразований в тимусе после резекции экспериментальной опухоли молочной железы и после химиотерапии.

### Методика

В работе использовали 80 половозрелых крыс-самок Wistar (возраст 3 мес на начало эксперимента, масса 250–280 г). Эксперименты проведены в соответствии с «Правилами работ с использованием экспериментальных животных» от 12.08.1977 г. № 755 и с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директиве Европейского сообщества (86/609/ЕС). Заключение этического комитета № 129. Группы животных: 1-я – интактные (возраст 9,5 мес) ( $n=20$ ); 2-я – рак молочной железы (РМЖ) ( $n=20$ ); 3-я оперативное лечение РМЖ ( $n=20$ , через 6 мес от момента индукции РМЖ, операция под наркозом (40 мг/кг нембутал внутривентриально; Sigma-Aldrich, США); 4-я – РМЖ ( $n=20$ ), проводился только курс химиотерапии (ХТ). РМЖ моделировали введением N-метил-N-нитрозомочевина (МНМ; «Sigma-Aldrich») 5 раз с интервалом в 7 сут подкожно в область 2-й молочной железы справа, в результате чего через 6,5 месяцев развивается опухоль, гистологическая форма верифицирована как инфильтративный протоковый рак с предраковыми изменениями в краевых зонах, внутрипротоковой пролиферацией [5]. Курс ХТ (через 6 мес от начала введения МНМ) включал 15 мг/кг 5-фторурацила и 2,5 мг/кг метотрексата («Ebewe»; внутривентриально на 1-е и 8-е сут курса ХТ), 3 мг/кг циклофосфана («Биохимия»; внутривентриально, ежедневно однократно в течение 14 сут). Всех животных из эксперимента выводили в возрасте 9,5 мес передозировкой наркоза (нембутал, «Sigma», 60 мг/кг внутривентри-

но). Гистологическое исследование тимуса, опухоли молочной железы и подмышечного (каудальный из 4 узлов) лимфатического узла проводили по стандартной методике. Гистологические препараты изучали с помощью окулярной тестовой системы при увеличении 16, 32, 200 и 1000 раз, методом точечного счёта производили морфометрию срезов и подсчет клеточных элементов в опухоли и структурно-функциональных зонах тимуса. В тимусе подсчитывали абсолютное количество клеток на стандартной площади 2025 мкм<sup>2</sup>, дифференцировали бласты, средние и малые лимфоциты, незрелые и зрелые плазматические клетки, клетки с фигурами митоза, гибнущие клетки, эпителиальные клетки, макрофаги, моноциты, тучные клетки. Клетки тимуса подсчитывались в четырех зонах: субкапсулярной, внутренней зоне коркового и мозгового вещества и в кортико-медуллярной зоне. В тимусе производили морфометрию коркового и мозгового вещества, соединительнотканых компонентов, железистых эпителиальных образований (эпителиальные тяжи, эпителиальные каналы), подсчитывали все тимусные тельца (Гассалья) на срезах всего органа, после чего рассчитывали их количество на стандартную площадь 10 мм<sup>2</sup>. В подмышечных лимфатических узлах определяли распространенность метастазов (локализацию атипичных клеток), в опухоли МЖ определяли соотношение паренхимы и стромы, выраженность клеточного полиморфизма. Для всех морфологических данных вычисляли абсолютные и относительные показатели. Статистическую обработку проводили в программе «Statistica 6.0» («StatSoft Inc.»), определяли статистическую значимость различий с помощью *t* критерия Стьюдента. Различия считали значимыми при  $p < 0.05$ .

### Результаты и обсуждение

Через 6,5 мес от начала введения МНМ выявлено замещение ткани МЖ крупными и, в основном, средними полиморфными атипичными клетками овальной, вытянутой или полигональной формы с гиперхромными ядрами. Выявлено преобладание паренхимы опухоли (60.5±1.7%) над стромой (39.5±1.2%), высокая пролиферативная активность клеток опухоли, клеточные тяжи опухоли разрушали окружающую жировую клетчатку, поперечнополосатую мышечную ткань, врастали в сосуды [5, 6]. В краевом синусе, паракортикальной зоне, мозговых синусах подмышечных лимфатических узлов выявлены метастазы опухоли – полиморфные атипичные клетки. Исследование показало, что в тимусе, через 6,5 мес от начала индукции РМЖ, выявлены признаки структурной дезорганизации, которые могут расцениваться как проявления 2-й фазы

акцидентальной инволюции тимуса: уменьшена площадь коркового вещества (**табл. 1**), уменьшено количество лимфоидных клеток (особенно во внутреннем слое коркового вещества), увеличено количество клеток с пикнотическими ядрами во всех зонах (**табл. 2**), увеличена площадь соединительнотканых элементов. Количество телец Гассалья в тимусе значительно увеличилось (РМЖ –  $5.12 \pm 1.1$ ), по сравнению с интактной группой ( $2.84 \pm 0.68$ ). Во всех зонах тимуса уменьшено количество малых лимфоцитов, а в корковом веществе и кортико-медуллярной зоне увеличено количество иммунобластов и митотически делящихся клеток. Увеличение количества иммунобластов, средних лимфоцитов, клеток на стадии митоза в корковом веществе и в кортико-медуллярной зоне можно расценивать как иммунную реакцию на рост опухоли [7], так и продукцию тимусом дефектных аутореактивных цитотоксических клеток, необходимых для формирования опухолевой иммунной толерантности [8, 9]. Увеличение площади железистых эпителиальных образований, по данным литературы, может свидетельствовать о повышенной секреции тимусных гормонов при экстремальных воздействиях на организм [10].

После оперативного лечения РМЖ метастазы в лимфатических узлах сохраняется на том же уровне, что и в группе с РМЖ без лечения. Из данных литературы известно, что оперативное удаление опухоли может способствовать стимулированию лимфо- и гематогенного распространения опухолевых клеток [11]. При этом полученные результаты структурных преобразований тимуса могут свидетельствовать об его акцидентальной инволюции, которая проявляется в менее выраженной форме, чем в группе с РМЖ без лечения: сохраняется уменьшение площади коркового вещества, снижена активность пролиферативных процессов в корковом веществе и центральной части моз-

гового вещества (уменьшено количество иммунобластов и митотически делящихся клеток), уменьшено количество клеток с пикнотическими ядрами, возросло количество эпителиоретикулярных клеток (**табл. 2**). Данные преобразования в структуре тимуса происходят на фоне увеличения плотности расположения клеточных элементов в корковом веществе (в субкапсулярной и центральной части), увеличения количества макрофагов во всех структурных компонентах. При этом структурные преобразования в тимусе, по сравнению с РМЖ без лечения, еще характеризуются уменьшением площади железистых эпителиальных образований на 54% (**табл. 1**), уменьшением количества телец Гассалья –  $2.4 \pm 0.75$ .

После ХТ в опухоли МЖ наблюдаются умеренно выраженные признаки лечебного патоморфоза (II степень), выражающиеся в регрессе и трансформации опухолевой ткани, дистрофии клеток, увеличении площади стромальных компонентов опухоли (паренхима  $54.5 \pm 2.4\%$ , строма –  $45.5 \pm 1.8\%$ ). В регионарных к опухоли подмышечных лимфатических узлах, по сравнению с РМЖ без лечения, выявлено уменьшение количества метастазов в паракортикальной зоне и мозговых синусах более чем на 80%. В тимусе после ХТ РМЖ, по сравнению с РМЖ без лечения, уменьшилась площадь железистых эпителиальных образований на 75% и количество телец Гассалья ( $2.1 \pm 0.8$ ). В нашем исследовании не отмечена гиперплазия тимуса после ХТ, которое описывается в литературе [4], напротив, выявлено уменьшение общей площади тимуса, площади долек, снижение количества иммунобластов в корковом веществе и малых лимфоцитов в центральной части коркового и мозгового вещества (**табл. 2**). Эти данные согласуются с результатами других авторов, показавшими влияние на регенерацию тимуса возраста пациента, а также ключевую роль IL-

Таблица 1

**Относительное содержание структурных компонентов тимуса в норме (контроль), при химически индуцированном раке молочной железы (РМЖ), оперативном лечении РМЖ, химиотерапии (ХТ) РМЖ ( $X \pm Sx, \%$ )**

Структурные компоненты тимуса	Интактные животные (1)	РМЖ (2)	Резекция РМЖ (3)	ХТ РМЖ (4)
Корковое вещество	$58.8 \pm 1.7$	$51.0 \pm 1.5^1$	$49.0 \pm 1.9^1$	$50.3 \pm 1.4^1$
Мозговое вещество	$30.5 \pm 1.2$	$34.5 \pm 1.3$	$36.9 \pm 1.0^1$	$37.9 \pm 1.2^1$
Соединительнотканые элементы (капсула, трабекулы)	$10.2 \pm 0.5$	$13.54 \pm 0.7^1$	$13.7 \pm 0.6^1$	$11.6 \pm 0.4^3$
Железистые эпителиальные образования	$0.5 \pm 0.08$	$0.96 \pm 0.15^1$	$0.4 \pm 0.07^2$	$0.2 \pm 0.07^2$

**Примечание.** Цифрами 1, 2 и 3 — обозначены статистически значимые отличия ( $p < 0.05$ ) от величин соответствующих экспериментальных групп.



7 и IL-7Ra в развитии тимуса после химиотерапии [12]. По сравнению с оперативным лечением РМЖ в тимусе выявлено уменьшение площади соединитель-

нотканых элементов, снижение количества митотически делящихся клеток в субкапсулярной зоне коркового вещества на 24%. В субкапсулярной и цен-

Таблица 2

**Клеточный состав структурных компонентов тимуса в норме (контроль) при химически индуцированном раке молочной железы (РМЖ), оперативном лечении РМЖ, химиотерапии (ХТ) РМЖ ( $\bar{X} \pm Sx$ , %)**

Клетки	Интактные животные (1)	РМЖ (2)	Резекция РМЖ (3)	ХТ РМЖ (4)
Субкапсулярная зона коркового вещества				
ИМ	4.96±0.19	9.84±0.61 <sup>1</sup>	5.98±0.11 <sup>1,2</sup>	5.62±0.15 <sup>1,2</sup>
СЛ	11.32±0.41	21.07±1.1 <sup>1</sup>	20.88±0.68 <sup>1</sup>	23.98±0.67 <sup>1</sup>
МЛ	78.88±3.28	61.65±2.3 <sup>1</sup>	64.26±1.16 <sup>1</sup>	60.52±1.11 <sup>1</sup>
Митозы	1.04±0.08	3.03±0.18 <sup>1</sup>	2.47±0.11 <sup>1</sup>	1.89±0.13 <sup>1,2,3</sup>
КПЯ	0.65±0.08	1.98±0.15 <sup>1</sup>	0.7±0.09 <sup>2</sup>	1.47±0.13 <sup>1,3</sup>
МФ	0.82±0.07	0.97±0.07	2.31±0.07 <sup>1,2</sup>	1.29±0.06 <sup>1,2,3</sup>
ЭРК	2.33±0.17	1.45±0.16 <sup>1</sup>	3.39±0.09 <sup>1,2</sup>	5.23±0.12 <sup>1,2,3</sup>
Центральная часть коркового вещества				
ИМ	3.13±0.16	5.66±0.37 <sup>1</sup>	2.95±0.1 <sup>2</sup>	3.86±0.2 <sup>2,3</sup>
СЛ	9.33±0.39	17.93±1.2 <sup>1</sup>	21.76±0.65 <sup>1,2</sup>	22.93±0.51 <sup>1,2</sup>
МЛ	82.73±2.68	70.21±1.9 <sup>1</sup>	68.71±1.55 <sup>1</sup>	64.11±1.31 <sup>1,2</sup>
Митозы	0.8±0.06	1.8±0.16 <sup>1</sup>	1.08±0.07 <sup>1,2</sup>	1.46±0.07 <sup>1,3</sup>
КПЯ	0.68±0.09	2.04±0.12 <sup>1</sup>	0.34±0.07 <sup>1,2</sup>	1.52±0.1 <sup>1,2,3</sup>
МФ	0.58±0.07	0.71±0.06	1.72±0.05 <sup>1,2</sup>	1.39±0.07 <sup>1,2,3</sup>
ЭРК	2.76±0.12	1.64±0.17 <sup>1</sup>	3.45±0.13 <sup>1,2</sup>	4.74±0.2 <sup>1,2,3</sup>
Кортико-медуллярная зона				
ИМ	3.12±0.18	5.61±0.4 <sup>1</sup>	4.67±0.17 <sup>1</sup>	5.19±0.18 <sup>1</sup>
СЛ	8.67±0.4	19.26±0.7 <sup>1</sup>	20.43±0.87 <sup>1</sup>	21.01±0.78 <sup>1</sup>
МЛ	81.2±1.3	66.3±3.23 <sup>1</sup>	64.47±2.15 <sup>1</sup>	62.27±1.48 <sup>1</sup>
Митозы	1.08±0.07	1.91±0.21 <sup>1</sup>	1.73±0.1 <sup>1</sup>	1.7±0.11 <sup>1</sup>
КПЯ	0.89±0.06	1.36±0.15 <sup>1</sup>	0.58±0.09 <sup>2</sup>	1.26±0.09 <sup>1,3</sup>
МФ	0.79±0.07	1.34±0.07 <sup>1</sup>	2.47±0.08 <sup>1,2</sup>	1.77±0.14 <sup>1,3</sup>
ЭРК	4.24±0.17	4.24±0.33	5.64±0.24 <sup>1,2</sup>	6.8±0.23 <sup>1,2,3</sup>
Центральная часть мозгового вещества				
ИМ	3.1±0.14	2.51±0.38	0.22±0.1 <sup>1,2</sup>	1.83±0.16 <sup>1,2,3</sup>
СЛ	12.95±0.46	20.37±0.8 <sup>1</sup>	16.13±0.71 <sup>1,2</sup>	23.66±1.03 <sup>1,3</sup>
МЛ	73.68±2.7	63.4±2.1 <sup>1</sup>	62.97±1.81 <sup>1</sup>	53.42±1.5 <sup>1,2,3</sup>
Митозы	0.68±0.1	1.03±0.19	0.07±0.05 <sup>1,2</sup>	0.26±0.08 <sup>1,2</sup>
КПЯ	0.86±0.06	1.68±0.18 <sup>1</sup>	0.33±0.1 <sup>1,2</sup>	1.79±0.14 <sup>1,3</sup>
МФ	1.04±0.1	2.41±0.13 <sup>1</sup>	5.07±0.3 <sup>1,2</sup>	2.91±0.15 <sup>1,3</sup>
ЭРК	7.7±0.24	8.6±0.37	15.21±0.7 <sup>1,2</sup>	16.13±0.94 <sup>1,2</sup>

**Примечание.** ИМ — иммунобласты, СЛ — средние лимфоциты, МЛ — малые лимфоциты, КПЯ — клетки с пикнотическими ядрами, МФ — макрофаги, ЭРК — эпителиоретикулярные клетки. Цифрами 1, 2 и 3 — обозначены статистически значимые отличия ( $p < 0.05$ ) от величин соответствующих экспериментальных групп.

тральной части коркового вещества тимуса выявлено уменьшение плотности расположения клеточных элементов. Во всех исследуемых структурных компонентах тимуса возросло количество эпителиоретикулярных клеток, клеток с пикнотическими ядрами при уменьшении количества макрофагов. При этом все равно количество макрофагов увеличено как по сравнению с интактной группой, так и группой с РМЖ без лечения. Данный факт может быть также связан с деструктивными процессами в тимусе вызываемыми химиотерапией.

### Заключение

Результаты исследований показали, что после проведения оперативного лечения или химиотерапии экспериментального РМЖ в тимусе происходят структурные преобразования, степень выраженности которых зависит от способа лечения. После оперативного лечения РМЖ акцидентальная инволюция тимуса проявляется в менее выраженной форме, чем после ХТ РМЖ. После ХТ РМЖ, по сравнению с оперативным лечением РМЖ, морфологические перестройки в тимусе могут свидетельствовать о снижении активности деятельности лимфоидного и эпителиального компонентов, влиянии на созревание лимфоцитов в соответствующих зонах тимуса, увеличении количества гибнущих клеток.

### Литература

#### (п.п. 6-12 см. References)

1. Драндрова Е.Г., Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Кострова О.Ю., Москвичев Е.В., Михайлова М.Н. и др. Иммуногистохимические исследования клеточного состава тимуса при канцерогенезе в условиях врожденного иммунодефицита. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 3: 193.
2. Кабаков А.В., Лыков А.П., Морозов Д.В., Казаков О.В., Повешенко А.Ф., Райтер Т.В. и др. Фенотипическая характеристика химически индуцированной опухоли молочной железы. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2017; 163(4): 490-3.
3. Казаков О.В., Кабаков А.В., Повешенко А.Ф., Миллер Т.В., Чепик В.И., Райтер Т.В. и др. Тимус при экспериментальном канцерогенезе молочной железы. *Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина*. 2014; 12(3): 58-62.
4. Казаков О.В., Кабаков А.В., Ищенко И.Ю., Повешенко А.Ф., Райтер Т.В., Струнkin Д.Н. и др. Тимус при экспериментальном канцерогенезе молочной железы и полихимиотерапии.

*Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016; 162(10): 476-80.

5. Коненков В.И., Бородин Ю.И., Любарский М.С. *Лимфология*. Новосибирск; Манускрипт; 2012.

### References

1. Drandrova E.G., Struchko G.Yu., Merkulova L.M., Kostrova O.Yu., Moskvichev E.V., Mihaylova M.N., et al. Immunohistochemical studies of the cell composition of the thymus in carcinogenesis in conditions of congenital immunodeficiency. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015; 3: 193. (In Russian)
2. Kabakov A.V., Lykov A.P., Morozov D.V., Kazakov O.V., Poveshchenko A.F., Rayter T.V., et al. Phenotypic characteristic of a chemically induced breast tumor. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2017; 163(4): 490-3. (In Russian)
3. Kazakov O.V., Kabakov A.V., Poveshchenko A.F., Miller T.V., Chepik V.I., Rajter T.V., et al. Thymus in experimental carcinogenesis of the mammary gland. *Vestnik Novosibirskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Seriya: Biologiya, klinicheskaya meditsina*. 2014; 12(3): 58-62 (in Russian)
4. Kazakov O.V., Kabakov A.V., Ishhenko I.Yu., Poveshchenko A.F., Rayter T.V., Strunkin D. N., et al. Thymus in experimental carcinogenesis of the mammary gland and chemotherapy. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2016; 162(10): 476-80. (in Russian)
5. Konenkov V.I., Borodin Yu.I., Lyubarskiy M.S. *Lymphology. [Limfologiya]*. Novosibirsk; Manuskript; 2012. (in Russian)
6. Bodey B., Siegel S.E., Kaiser H.E. *Immunological Aspects of Neoplasia – The Role of the Thymus*. Dordrecht; Boston; Kluwer Academic Publishers; 2004.
7. Baum M., Demicheli R., Hrushesky W., Retsky M. Does surgery unfavourably perturb the «natural history» of early breast cancer by accelerating the appearance of distant metastases. *European Journal of Cancer*. 2005; 41(4): 508–15.
8. Esendagli G., Yilmaz G., Canpinar H., Gunel-Ozcan A, Guc M, Guc D. Coexistence of different tissue tumourigenesis in an N-methyl-N-nitrosourea-induced mammary carcinoma model: a histopathological report in Sprague-Dawley rats. *Laboratory Animals*. 2009; 43: 60–4.
9. Mailloux A.W., Young M.R. Regulatory T-cell trafficking: from thymic development to tumorinduced immune suppression. *Critical Reviews in Immunology*. 2010; 30(5): 435-47.
10. Sehbai A.S., Tallaksen R.J., Bennett J., Abraham J. Thymic hyperplasia after adjuvant chemotherapy in breast cancer. *Journal of Thoracic Imaging*. 2006; 21(1): 43-6.
11. Sun D.P., Wang L., Ding C.Y., Liang J.H., Zhu H.Y., Wu Y.J., et al. Investigating Factors Associated with Thymic Regeneration after Chemotherapy in Patients with Lymphoma. *Frontiers in Immunology*. 2016; 7: 7: 654. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00654>
12. Tsubura A., Lai Y.C., Miki H., Sasaki T., Uehara N., Yuri T., et al. Animal models of N-Methyl-N-nitrosourea-induced mammary cancer and retinal degeneration with special emphasis on therapeutic trials. *In Vivo*. 2011; 25(1): 11-22.

**Сведения об авторах:**

**Казакوف Олег Васильевич**, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. физиологии протективной системы «НИИ клинической и экспериментальной лимфологии» – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: kazakoff\_oleg@mail.ru;

**Повещенко Александр Федорович**, доктор мед. наук, руководитель лаб. физиологии протективной системы «НИИ клинической и экспериментальной лимфологии» – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»; ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет», e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru;

**Кабакوف Алексей Васильевич**, мл. науч. сотр. лаб. физиологии протективной системы «НИИ клинической и экспериментальной лимфологии» – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: kabakov\_av85@mail.ru;

**Повещенко Ольга Владимировна**, доктор мед. наук, руководитель лаб. клеточных технологий «НИИ клинической и экспериментальной лимфологии» – филиал ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: PoveschenkoOV@yandex.ru;

**Стрункин Дмитрий Николаевич**, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. физиологии протективной системы «НИИ клинической и экспериментальной лимфологии» – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: Strunkind@mail.ru;

**Лыков Александр Петрович**, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. клеточных технологий «НИИ клинической и экспериментальной лимфологии» – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: aplykov2@mail.ru;

**Коненков Владимир Иосифович**, доктор мед. наук, акад. РАН, науч. руководитель филиала «НИИ клинической и экспериментальной лимфологии» – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: vikonenkov@gmail.com

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-092

Фоменко О.Ю.<sup>1</sup>, Порядин Г.В.<sup>2</sup>, Морозов С.В.<sup>3</sup>, Салмаси Ж.М.<sup>2</sup>, Кашников В.Н.<sup>1</sup>, Бирюков О.М.<sup>1</sup>,  
Козлов В.А.<sup>1</sup>, Реутова А.А.<sup>4</sup>, Румянцев А.С.<sup>4</sup>, Белоусова С.В.<sup>1</sup>

## Оценка результатов консервативного лечения функциональных расстройств дефекации у пациенток с пролапсом тазовых органов

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр колопроктологии им. А.Н. Рыжих» Минздрава России, 123423, Москва, Россия, ул. Саяма Адиля, д. 2;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, Москва, Россия, ул. Островитянова, д. 1;

<sup>3</sup>ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи» Минздрава России, 109240, Москва, Россия, Устьинский проезд, д. 2/14;

<sup>4</sup>ГБУЗ Государственная клиническая больница № 67 им. Л.А. Ворохобова ДЗМ, 123423, Москва, Россия, ул. Саяма Адиля, д. 2/44, стр. 1

**Введение.** В патогенезе расстройств дефекации у больных с ректоцеле могут участвовать как анатомические, так и функциональные нарушения. Однако до настоящего времени о возможности консервативной терапии, направленной на коррекцию функциональных расстройств дефекации, изучены недостаточно.

**Цель:** изучение эффективности использования методов включающих БОС-терапию (терапия биологической обратной связью, biofeedback терапия) и тибиальной нейромодуляции в лечении больных с функциональными расстройствами дефекации на фоне пролапса тазовых органов.

**Методика.** Материалом исследования служили результаты обследования пациенток в возрасте от 18 до 75 лет с наличием функционального расстройства дефекации (ФРД) в сочетании с ректоцеле без ранее проводившихся попыток хирургической коррекции. Проведены оценка общеклинических данных, опрос при помощи специализированного опросника выраженности расстройств эвакуаторной функции толстой кишки, рентгеновская дефектография, аноректальная манометрия высокого разрешения до и после комплекса консервативной реабилитации при помощи БОС-терапии и тибиальной нейромодуляции.

**Результаты.** Конечному анализу были доступны данные 60 пациенток. Ректоцеле 1-й степени выявлено у 3 человек (5%), 2-й – у 37 (61,7%), 3-й степени – у 20 (33,3%) участниц исследования. Средний балл по симптомному опроснику составил 11,4±3,7. ФРД I типа выявлено у 41 (68,3%), II типа – у 6 (10%), III – у 10 (16,7%) и IV – у 3 (5%) участниц. После проведенной БОС-терапии признаки ФРД полностью устранены у 36,7% (22/60) женщин с ректоцеле. Неэффективной БОС-терапия оказалась у 11/41 (26,8 %) пациенток с I типом манометрического паттерна, 2/6 (33,3 %) со II типом и 4/10 (40,0 %) пациенток с III типом ФРД; (всего у 17/60 (28,3 %)). У пациенток с IV типом паттерна неэффективные результаты лечения отсутствовали.

**Заключение.** БОС-терапия и тибиальная нейромодуляция приводят к устранению симптомов в 36,7% случаев и положительной динамике у 35,0% больных. Методы могут быть рекомендованы к использованию в комплексной терапии эвакуаторных расстройств дефекации у больных с ректоцеле,

**Ключевые слова:** биофидбэк терапия; тибиальная нейромодуляция; ректоцеле; расстройства дефекации, БОС-терапия; лечебная физкультура

**Для цитирования:** Фоменко О.Ю., Порядин Г.В., Морозов С.В., Салмаси Ж.М., Кашников В.Н., Бирюков О.М., Козлов В.А., Реутова А.А., Румянцев А.С., Белоусова С.В. Оценка результатов консервативного лечения функциональных расстройств дефекации у пациенток с пролапсом тазовых органов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(2): 44-52.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.44-52

**Для корреспонденции:** Фоменко Оксана Юрьевна, e-mail: oksana671@yandex.ru

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Фоменко О.Ю., Порядин Г.В.; сбор и обработка материала – Белоусова С.В., Реутова А.А., Румянцев А.С.; подготовка иллюстративного материала – Бирюков О.М.; статистическая обработка результатов – Козлов В.А.; написание текста – Фоменко О.Ю.; редактирование – Морозов С.В., Салмаси Ж.М., Кашников В.Н.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 16.09.2020

Принята к печати 25.03.2021

Опубликована 30.06.2021

Fomenko O.Yu.<sup>1</sup>, Poryadin G.V.<sup>2</sup>, Morozov S.V.,<sup>3</sup> Salmasy Zh.M.,<sup>2</sup> Kashnikov V.N.<sup>1</sup>, Biryukov O.M.<sup>1</sup>, Kozlov V.A.<sup>1</sup>, Reutova A.A.<sup>4</sup>, Rumiantsev A.S.<sup>4</sup>, Belousova S.V.<sup>1</sup>

## The role of conservative treatment of functional defecatory disorders and further perspectives in patients with pelvic organ prolapse

<sup>1</sup>A.N. Ryzhikh National Medical Research Centre for Coloproctology, Salyama Adilya St. 2, Moscow 123423, Russian Federation;

<sup>2</sup>N.I. Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU), Ostrovityanova St. 1, Moscow 117997, Russian Federation;

<sup>3</sup>Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Ustjinskiy Proezd 2/14, Moscow 109240, Russian Federation;

<sup>4</sup>L.A.Vorokhobov State Municipal Hospital № 67, 2/44, Salyama Adilya St. 2/44, Bldg 1, Moscow 123423, Russia Federation

**Introduction:** In the pathogenesis of defecatory disorders in patients with rectocele, both functional and anatomical factors may play a role. However, possibilities of conservative treatment of functional defecatory disorders (FDD) for correction of these factors have not been widely studied.

**Aim.** To assess the efficacy of conservative methods like biofeedback therapy (BFB) and tibial neuromodulation (TNM) for treatment of patients with functional FDD and rectocele.

**Methods.** Information collected during examinations of female patients with FDD and rectocele and with no previous surgery served as source data. Before and after conservative treatment with BFB and TNM, symptoms were assessed, responses to a specialized questionnaire on the severity of rectal evacuatory function impairment were analyzed, and X-ray defecography and high-resolution anorectal manometry were performed. Data before and after treatment were compared with non-parametric statistics (Wilcoxon matched pairs test).

**Results.** The data of 60 women (mean age 48.2±13.4 years) were analyzed. Rectocele grade 1 was detected in 3 (5%), grade 2 in 37 (61.7%), and grade 3 in 20 (33.3%) patients. Mean symptom score on the specialized questionnaire was 11.4±3.7. FDD type I manometric pattern was found in 41 (68.3%), type II in 6 (10%), type III in 10 (16.7%), and IV in 3 (5%) participants. Complete resolution of FDD after BFB and TNM therapy was found in 22/60 (36.7%) of women. BFB and TNM therapy was ineffective in 11/41 (26.8%) patients with FDD type I, in 2/6 (33.3%) with type II, and in 4/10 (40.0%) patients with type III FDD. This conservative treatment was effective in 100% patients with type IV pattern of FDD. Based on the results, we suggest further actions to improve the outcomes of conservative treatment.

**Conclusion.** Conservative treatment with combined biofeedback therapy and tibial neuromodulation may help improve symptoms in 35% of patients and lead to complete resolution of functional component in 37% of patients with functional defecatory disorders and rectocele. This treatment was not effective in 28% of patients.

**Keywords:** biofeedback therapy; tibial neuromodulation; rectocele; function functional defecatory disorders; anorectal manometry; conservative rehabilitation

**For citation:** Fomenko O.Yu., Poryadin G.V., Morozov S.V., Salmasy Zh.M., Kashnikov V.N., Biryukov O.M., Kozlov V.A., Reutova A.A., Rumyantsev A.S., Belousova S.V. The role of conservative treatment of functional defecatory disorders and further perspectives in patients with pelvic organ prolapse. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 66(2): 44-52 (in Russian).

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2021.02.44-52

**For correspondence:** *Oksana Yu. Fomenko*, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Laboratory of Clinical Pathophysiology «Ryzhikh National Medical Research Centre for Coloproctology» Ministry of Health of Russia; 2 Salam Adil St., Moscow 123423, Russia, e-mail: oksana671@yandex.ru

**Contribution.** concept and design of the study – Fomenko O.Yu., Poryadin G.V.; collection and processing of the material – Belousova S.V., Reutova A.A., Rumyantsev A.S.; preparation of illustrative material – Biryukov O.M.; statistical processing – Kozlov V.A.; writing the text – Fomenko O.Yu.; editing – Morozov S.V., Salmasy Zh.M., Kashnikov V.N.

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

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

### Information about the authors:

Fomenko O.Yu., <https://orcid.org/0000-0001-9603-6988>

Poryadin G.V., <https://orcid.org/0000-0003-2010-3296>

Morozov S.V., <https://orcid.org/0000-0001-6816-3058>

Salmasy Zh.M., <https://orcid.org/0000-0001-8524-0019>

Kashnikov V.N., <https://orcid.org/0000-0002-5385-7898>

Biryukov O.M., <https://orcid.org/0000-0002-1081-1793>

Kozlov V.A., <https://orcid.org/0000-0003-1788-1484>

Reutova A.A., <https://orcid.org/0000-0001-5558-6545>

Rumyantsev A.S., <https://orcid.org/0000-0002-1548-5456>

Belousova S.V., <https://orcid.org/0000-0003-1475-2599>

Received 16.09.2020

Accepted 25.03.2021

Published 30.06.2021

## Введение

Пролапс гениталий — это заболевание, при котором происходит опущение или выпадение органов малого таза через влагалище [1]. В работе анализируются данные пациенток с ректоцеле как вариантом заднего пролапса. Ректоцеле (*rectocele*: лат. *rectum* — прямая кишка; греч. *kele* — выпячивание, грыжа, припухлость) представляет собой дивертикулоподобное выпячивание стенки прямой кишки в сторону влагалища [2].

Неэффективное опорожнение прямой кишки является частой и значимой проблемой у пациенток с ректоцеле. Наиболее часто ректоцеле ассоциировано с травматичными родами [3]. Симптомы нарушения дефекации могут широко варьировать — от урежения частоты стула, появления чувства неполного опорожнения до необходимости дополнительных манипуляций, как, например, давление на стенку влагалища [4]. В значительном числе случаев затруднения опорожнения кишечника остаются за пределами внимания узких специалистов — колопроктологов, гастроэнтерологов; лечение назначается врачами общей практики или терапевтами и обычно включает назначение одного из вариантов слабительных средств [4]. Эффективность такого лечения далека от оптимальной ввиду отсутствия воздействия на патогенетические факторы — анатомические дефекты и связанные с ними нарушения моторики аноректальной зоны. Альтернативным вариантом при данной патологии традиционно является хирургическое лечение [3]. Безусловно, коррекция анатомического дефекта является важным этапом лечения таких пациенток, в особенности при наличии тяжелых степеней пролапса. Тем не менее, восстановления дефекации после оперативного вмешательства удается достичь далеко не всегда [3]. В то же время, ректоцеле и внутренняя ректальная инвагинация могут быть диагностированы у женщин без жалоб на нарушения функции держания и опорожнения только как случайная находка при рентгенологическом исследовании [5-17]. Совокупность этих данных, по-видимому, свидетельствует о том, что на фоне анатомического дефекта у таких пациенток зачастую может формироваться функциональное расстройство дефекации — синдром, включающий наличие критериев функционального запора или синдрома раздраженного кишечника с преобладанием запоров в сочетании с подтвержденными соответствующими методами нарушениями аноректальной моторики (диссинергическая дефекация или неадекватная пропульсия) [18, 19]. Это также подтверждается немногочисленными

публикациями, в которых было показано, что включение в схему лечения методов с использованием принципов биологической обратной связи (БОС-терапия, или биофидбэк-терапия) — самостоятельно, или в сочетании с тиббиальной нейромодуляцией (ТНМ) — может быть достаточно эффективно у такой категории больных [20-24]. В то же время, результативность таких подходов изучена недостаточно. **Цель исследования** — оценка эффективности комплексной консервативной реабилитации (в виде БОС-терапии и ТНМ на фоне ЛФК и диетотерапии) в лечении больных функциональным расстройством дефекации (ФРД) на фоне пролапса тазовых органов.

## Методика

Исследование проводилось на базе ФГБУ «НМИЦ колопроктологии им. А.Н. Рыжих» Минздрава России в 2017-2019 гг. Протокол и документы исследования были одобрены локальным этическим комитетом.

**Критерии включения** в исследование: наличие письменного добровольного информированного согласия на участие в исследовании, женский пол, возраст участниц от 18 до 75 лет, наличие функционального расстройства дефекации в соответствии с Римскими критериями IV пересмотра [18] в сочетании с пролапсом тазовых органов в форме ректоцеле; отсутствие в анамнезе оперативных вмешательств, направленных на коррекцию ректоцеле и укрепление мышц тазового дна. **Критерии исключения:** онкологические заболевания, психические нарушения, тяжелая соматическая патология, необходимость в постоянном приеме препаратов, которые могли бы повлиять на моторику аноректальной зоны (в том числе спазмолитиков, а также всех групп лекарственных средств, влияющих на вегетативную нервную систему), общее состояние обследуемой, вследствие которого было невозможно проведение всех процедур, предусмотренных протоколом исследования. В случае, если конечному анализу не были доступны все результаты, предусмотренные протоколом исследования, данные этих пациентов из анализа исключались.

**Процедуры исследования.** Обязательный диагностический алгоритм включал в себя сбор жалоб и анамнеза, физикальный осмотр и инструментальное обследование согласно перечисленному ниже.

**Выраженность нарушений эвакуаторной функции толстой кишки.** Для объективизации клинической оценки все больные заполняли соответствующий вопросник — «Система балльной оценки нарушений эвакуаторной функции толстой кишки» [25].

*Рентгеновская дефекография* выполнялась по стандартной методике [26, 27].

*Оценка функции запирающего аппарата прямой кишки* проводилась при помощи метода аноректальной манометрии высокого разрешения с использованием комплекса Solar Gastro GI (MMS, Нидерланды) и стандартного программного обеспечения производителя оборудования. Для исследования использовался 8-канальный водноперфузионный катетер с ректальным баллоном для измерения интра ректального давления. Наличие неадекватной пропульсии при II и IV типах манометрического паттерна устанавливалось по показателям пикового давления в прямой кишке при натуживании (менее 45 мм рт. ст.) и увеличению остаточного давления относительно давления покоя (II тип) или недостаточному его снижению (менее 20% от среднего давления покоя) при натуживании. Наличие диссинергической дефекации I и III типа диагностировалось при регистрации пикового давления в прямой кишке при натуживании более 45 мм рт. ст. и повышении остаточного давления в анальном канале относительно давления покоя (I тип); при отсутствии снижения остаточного давления более 20% при натуживании – III тип паттерна, соответственно [28]. Процент релаксации рассчитывался по формуле:

$$PR=100\% \times \frac{P_{rest} - P_{push}}{P_{rest}},$$

где PR – процент релаксации,  $P_{rest}$  – среднее давление в покое,  $P_{push}$  – остаточное давление при натуживании [29]. Согласно Римским критериям IV пересмотра, наличие функциональных расстройств дефекации (ФРД) было диагностировано при наличии манометрического паттерна и одного из двух вариантов: **отрицательной эвакуаторной пробы или признаков нарушения эвакуации при дефекографии [28]**.

Колоноскопия проводилась всем пациенткам для исключения органической патологии толстой кишки (отделение эндоскопической диагностики и хирургии, руководитель – доктор мед. наук, проф. В.В. Веселов).

*Программа консервативной реабилитации.* Учитывая патофизиологический механизм обструктивной дефекации, связанный с функциональными расстройствами дефекации по определенному манометрическому паттерну, нами была разработана программа консервативной реабилитации, включающая БОС-терапию (терапия биологической обратной связью), основанную на формировании правильного паттерна координации сокращений мышц передней брюшной стенки и релаксации мышц тазового дна при контроле ЦНС [30–35] и тиббиальную нейромодуляцию (с по-

пыткой воздействия путем нейромодуляции на половой нерв путем антеградного распространения возбуждения по тиббиальному и далее по седалищному нерву) [36–41].

Таким образом, всем пациенткам была проведена БОС-терапия по программе обструктивной дефекации на аппарате Urostim (Laborie, Канада) и тиббиальная нейромодуляция с двух сторон (TNM). Курс лечения включал 10 сеансов продолжительностью 60 мин, 1 раз в сутки ежедневно.

Эффективность лечения оценивалась непосредственно после завершения курса по результатам повторной аноректальной манометрии высокого разрешения и опроса по Системе балльной оценки нарушенной эвакуаторной функции толстой кишки.

*Статистическая обработка результатов.* Для статистического анализа данных использовался статистический пакет Stata 14.2 (StataCorp). Формат описательной статистики представлен в виде M (SD), где M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение,

Проверка нормальности распределения признака, включая остатки в уравнениях регрессии, осуществлялась на основании критерия Шапиро–Уилка (нулевая гипотеза о нормальном распределении). Все распределения в анализе получились нормальными.

Для определения статистической значимости различий до и после лечения в работе использовался непараметрический U-критерий Манна–Уитни.

## Результаты

Конечному анализу были доступны данные 60 женщин, давших письменное информированное согласие на участие в исследовании – по которым были доступны все предусмотренные протоколом исследования результаты.

Средний возраст участниц исследования составил  $48,2 \pm 13,4$  лет.

По данным клинического осмотра и рентгенологического исследования у 3 (5%) пациенток было выявлено ректоцеле 1-й степени, у 37 (61,7%) – 2-й степени, у 20 (33,3%) больных выявлена 3-я++++ степень.

Согласно опроснику, выраженность нарушений эвакуаторной функции толстой кишки до лечения составила  $11,4 \pm 3,7$  баллов из максимально возможных 22 баллов.

По результатам аноректальной манометрии высокого разрешения среди всех пациенток ФРД I типа выявлено у 41/60 (68,3%), II типа – у 6/60 (10%), III типа – у 10/60 (16,7%), IV типа – у 3/60 (5%) (табл. 1, рис. 1, 2).

После 10 сеансов комплексной терапии, описанной выше, мы регистрировали нормализацию показателей остаточного давления в анальном канале при натуживании у 12/41 (29,3 %) пациенток с исходным I типом нарушений по данным HRAM, у 2/6 (33,3 %) – со II типом манометрического паттерна, у 6/10 (60,0 %) – с III типом и 2/3 (66,7%) – с IV. Причем у пациенток с исходным II и IV типом ФРД нормализация остаточного давления в анальном канале происходила на фоне адекватного пикового давления в прямой кишке при натуживании.

Таким образом, при контрольном исследовании после проведенной БОС-терапии признаки ФРД полностью ликвидированы у 22/60 (36,7%) женщин с ректоцеле.

Неэффективной БОС-терапия оказалась у 11/41 (26,8 %) пациенток с I типом манометрического паттерна, 2/6 (33,3 %) со II типом и 4/10 (40,0 %) пациенток с III типом ФРД; всего у 17/60 (28,3 %). У пациенток с IV типом паттерна неэффективных результатов лечения не было – трансформация в III тип у 1 пациентки расценена как положительная динамика

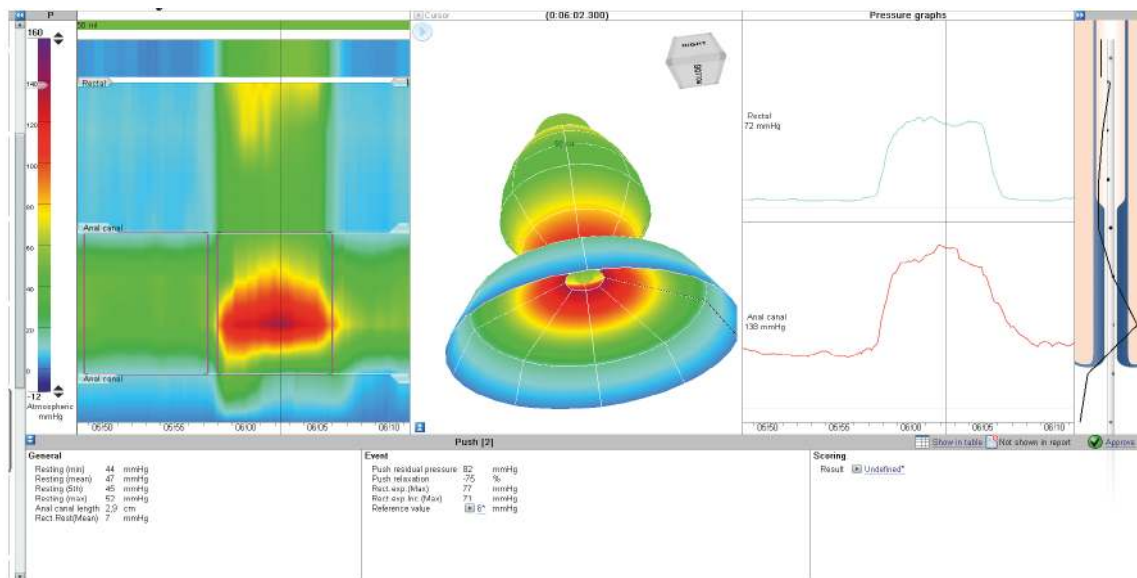


Рис. 1. Манометрический паттерн I типа у пациентки до лечения.

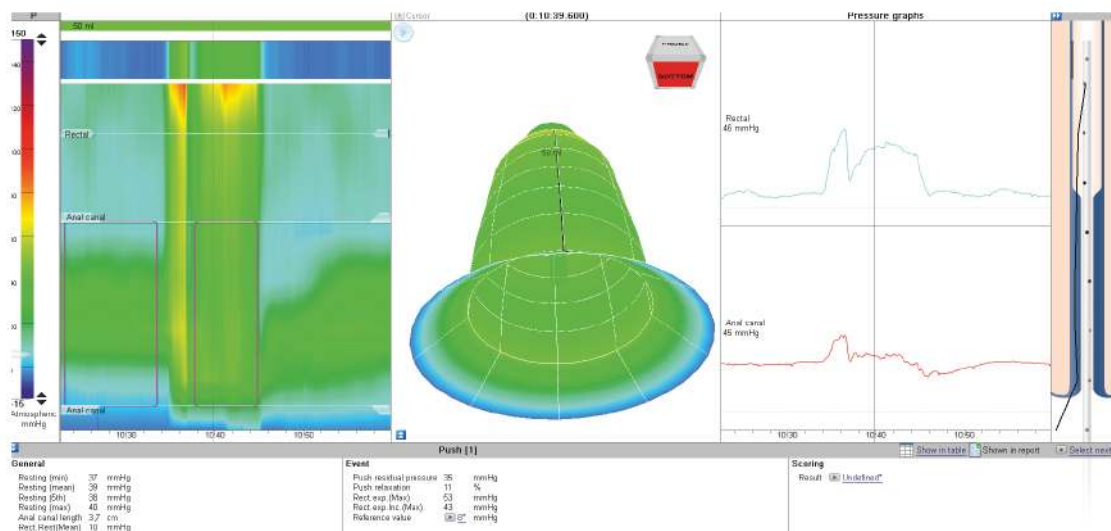


Рис. 2. Манометрический паттерн III типа у пациентки после лечения.



с повышением пикового давления в прямой кишке до 45 мм рт. ст.

Положительная динамика в виде тенденции к нормализации коэффициента релаксации среди пациенток с I типом ФРД регистрировалась у 18/41 (43,9 %) человек (трансформация в III тип) (рис. 1, 2), среди пациенток со II типом паттерна – у 2/6 (33,3%) (трансформация в IV тип с сохранением неадекватной пропульсии).

В среднем, положительная динамика с тенденцией к нормализации состояния была выявлена у 21/60 (35,0 %) пациенток с ректоцеле (табл. 2).

Средний балл по Системе балльной оценки нарушений эвакуаторной функции толстой кишки у пациенток после лечения оказался равен  $8,7 \pm 3,7$  (до лечения  $11,4 \pm 3,7$ ), что отражало положительную динамику в виде субъективного улучшения функции эвакуации у пациенток с ректоцеле. Согласно критерию Манна-Уитни, различия в балльной оценке нарушений эвакуаторной функции толстой кишки до и после лечения статистически значимы ( $p < 0,001$ ). Также данный тест демонстрирует, что показатели давления в состоянии покоя до и после лечения отличаются незначительно ( $p = 0,29$ ), но в состоянии натуживания различия значимы ( $p < 0,001$ ).

Балл по Системе балльной оценки нарушений эвакуаторной функции толстой кишки после лечения зна-

чимо выше только для I типа ФРД ( $p < 0,001$ ), однако незначимость различий для других типов может быть связана с небольшим числом наблюдений. Показатель остаточного давления при натуживании для I типа ФРД различается до и после лечения статистически значимо ( $p = 0,01$ ), для III типа статистически незначимо на 5% уровне ( $p = 0,07$  – значимость на 10% уровне также можно объяснить малым числом наблюдений).

### Обсуждение

В нашей работе удалось продемонстрировать, что комплексная консервативная реабилитация (в виде БОС-терапии и ТНМ) оказывает положительное влияние на состояние функции эвакуации у больных obstructивной дефекацией при пролапсе тазовых органов. Аналогичные результаты были продемонстрированы и в ранее опубликованных работах [42, 43]. Это может свидетельствовать о том, что причиной нарушения эвакуации может быть не только анатомический дефект, но и сопутствующее ФРД, требующее применения специальных подходов, таких как, например, использованные в настоящей работе. Тем не менее, полная нормализация состояния с отсутствием признаков дискоординации работы мышц тазового дна и сфинктерного аппарата отмечена только у 36,7 % больных. При этом данные показатели близки к проценту излечения от ФРД в нашей ранее проведенной работе

Таблица 1

#### Манометрические признаки различных типов ФРД у пациенток с ректоцеле до лечения (n=60)

Распределение по типу манометрического паттерна	Показатели			
	Среднее давление в анальном канале в покое, мм рт. ст.	Остаточное давление в анальном канале при натуживании, мм рт. ст.	Процент расслабления при натуживании, %	Система балльной оценки нарушений эвакуаторной функции толстой кишки, балл
I (n=41)	59,7±21,8	73,9±25,4	-27,0±20,5	11,0±3,4
II (n=6)	51,3±25,8	67,0±25,9	-33,2±25,8	12,0±4,5
III (n=10)	73,3±26,9	70,6±24,1	7,7±3,5	12,2±4,7
IV (n=3)	56,9±33,1 (или 22,8; 59,0; 89,0)	57,9±23,3 (или 36,8; 54,0; 83,0)	7,0±2,0 (или 5; 7; 9)	12,7±4,2 (или 8; 14; 16)

Таблица 2

#### Результаты БОС-терапии ФРД у больных ректоцеле (n=60)

Тип ФРД	Нормализация показателей	С положительной динамикой	Без положительной динамики
I (41)	12 (29,3 %)	18 (43,9 %)	11 (26,8 %)
II (6)	2 (33,3 %)	2 (33,3 %)	2 (33,3%)
III (10)	6 (60 %)	-	4 (66,7 %)
IV (3)	2 (66,7 %)	1 (33,3 %)	-

у пациентов старших возрастных групп — 34,8% — что также подчеркивает вклад функционального компонента в генез запоров при наличии пролапса тазовых органов [42]. Однако, как видно из представленных результатов, полный эффект от лечения достигнут менее чем у половины больных. С одной стороны, это может быть объяснено наличием анатомического дефекта и являться показанием к оперативному лечению, это действительно соответствует стандартам клинической практики. С другой — может свидетельствовать о том, что необходимо воздействовать на дополнительные патофизиологические механизмы, в частности, обусловленные нерациональным питанием и недостаточной физической активностью.

### Заключение

Применение БОС-терапии и тиббиальной нейромодуляции привело к нормализации манометрических показателей у больных пролапсом тазовых органов в виде ректоцеле в 36,7% случаев. Улучшение функционального состояния дистального отдела толстой кишки отмечено у 35,0% больных. Неэффективным использование комплексной терапии оказалось в 28,3% наблюдений. Клинически отмечалась положительная динамика балльной оценки эвакуаторной функции до и после лечения —  $8,7 \pm 3,7$  баллов против исходных  $11,4 \pm 3,7$  ( $p < 0,001$ ).

### Литература

(п.п. 5-24; 28; 30-41 см. References)

1. Пушкар Д.Ю., Раснер П.И., Гвоздев М.Ю. Пролапс гениталий. *Русский медицинский журнал*. 2013; 34: 11. [https://www.rmj.ru/articles/biblioteka\\_patsienta\\_urologiya/Prolaps\\_genitaliy/](https://www.rmj.ru/articles/biblioteka_patsienta_urologiya/Prolaps_genitaliy/) Ссылка активна на 19.05.20.
2. Шельгин Ю.А. *Справочник по колопроктологии*. М: Литтерра; 2012.
3. Шельгин Ю.А., ред. Клинические рекомендации. *Колопроктология*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015. [http://www.gnck.ru/rec/recommendation\\_diag\\_2015.pdf](http://www.gnck.ru/rec/recommendation_diag_2015.pdf) Ссылка активна на 19.05.20.
4. Парфенов А.И., Индейкина Л.Х., Беляева А.А., Павлов М.В., Орлова Н.В., Атрощенко А.О. и др. *Хронический запор. Методические рекомендации*. М.: Прима Принт. 2016. [http://www.mucofalk.ru/download/Parfenov\\_Zapor.pdf](http://www.mucofalk.ru/download/Parfenov_Zapor.pdf) Ссылка активна на 19.05.20.
5. Шельгин Ю.А., Бирюков О.М., Титов А.Ю., Фоменко О.Ю., Мудров А.А. Существуют ли предикторы результатов хирургического лечения ректоцеле? *Колопроктология*. 2015; 1(51): 64-69. [http://www.gnck.ru/pdf/journal\\_1\\_51\\_2015.pdf](http://www.gnck.ru/pdf/journal_1_51_2015.pdf) Ссылка активна на 19.05.20.
6. Орлова Л.П., Зароднюк И.В., Кузьминов А.М., Долгатова М.А., Чуприна С.В. Особенности лучевой диагностики ректоцеле. *Медицинская визуализация*. 2006; 1: 98-102. [http://vidar.ru/Article.asp?fid=MV\\_2006\\_1\\_98](http://vidar.ru/Article.asp?fid=MV_2006_1_98) Ссылка активна на 19.05.20.
7. Зароднюк И.В. Рентгенологическая дефекография в обследовании колопроктологических больных. *Радиология — практи-*

ка. 2004; 2: 26-30. [http://www.radp.ru/db/20042/RP\\_2004\\_2\\_26.pdf](http://www.radp.ru/db/20042/RP_2004_2_26.pdf) Ссылка активна на 19.05.20.

29. Фоменко О.Ю., Шельгин Ю.А., Порядин Г.В., Титов А.Ю., Пономаренко А.А., Мудров А.А. и др. Функциональное состояние мышц тазового дна у пациентов с синдромом обструктивной дефекации. *Колопроктология*. 2017; 2(60): 55-61. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2017-0-2-55-61>
42. Фоменко О.Ю., Козлов В.А., Алешин Д.В., Бирюков О.М., Белоусова С.В., Мудров А.А. и др. Консервативная реабилитация пациентов старших возрастных групп с нарушением опорожнения кишечника на фоне пролапса тазовых органов. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2019; (5): 111-20. <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-165-5-111-120>
43. Фоменко О.Ю., Титов А.Ю., Бирюков О.М., Мудров А.А., Белоусова С.В., Егорова Д.В. Диагностика и консервативное лечение функциональных расстройств дефекации. *Колопроктология*. 2016; (3): 48-54. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2016-0-3-48-54>

### References

1. Pushkar D.Yu., Rasner P.I., Gvozdev M.Yu. Prolapse of genitals. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2013; 34: 11. (In Russian) [https://www.rmj.ru/articles/biblioteka\\_patsienta\\_urologiya/Prolaps\\_genitaliy/](https://www.rmj.ru/articles/biblioteka_patsienta_urologiya/Prolaps_genitaliy/) The link is active on 19.05.20
2. Shelygin Yu.A. *Handbook of Coloproctology. [Spravochnik po koloproktologii]*. Moscow; Litterra; 2012. (In Russian)
3. Shelygin Yu. A., ed. *Clinical recommendations. Coloproctology [Klinicheskie rekomendatsii. Koloproktologiya]*. Moscow; GEOTAR-Media; 2015. (In Russian) [http://www.gnck.ru/rec/recommendation\\_diag\\_2015.pdf](http://www.gnck.ru/rec/recommendation_diag_2015.pdf) The link is active on 19.05.20
4. Parfenov A. I., Indykina L. H., Belyaeva A. A., Pavlov M. V., Orlova N. V., Atroschenko A. O., et al. *Chronic constipation. Guidelines. [Khronicheskiy zapor. Metodicheskie rekomendatsii.]*. Moscow; Prima Print; 2016. (In Russian) [http://www.mucofalk.ru/download/Parfenov\\_Zapor.pdf](http://www.mucofalk.ru/download/Parfenov_Zapor.pdf) The link is active on 19.05.20.
5. <https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/17415-rectocele> The link is active on 19.05.20
6. Blaker K., Anandam J.L. Functional Disorders: Rectoanal Intussusception. *Clin Colon Rectal Surg*. 2017; 30(1): 5-11. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1593433>
7. Palit S., Bhan C., Lunniss P.J., Boyle D.J., Gladman M.A., Knowles C.H., et al. Evacuation proctography: a reappraisal of normal variability. *Colorectal Dis*. 2014; 16(7): 538-546. <https://doi.org/10.1111/codi.12595>
8. Lefevre R., Davila G.W. Functional disorders: rectocele. *Clin Colon Rectal Surg*. 2008; 21(2): 129-37. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1075862>
9. Bharucha A.E., Dorn S.D., Lembo A., Pressman A. American Gastroenterological Association medical position statement on constipation. *American Gastroenterological Association, Gastroenterology*. 2013; 144(1): 211-7. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.10.029>
10. Goh J.T., Tjandra J.J., Carey M.P. How could management of rectoceles be optimized? *ANZ J Surg*. 2002; 72(12): 896-901. <https://doi.org/10.1046/j.1445-2197.2002.t01-1-02577.x>
11. Rao S.S.C., Go J.T. Treating Pelvic Floor Disorders of Defecation: Management or Cure? *Curr Gastroenterol Rep*. 2009; 11(4): 278-87. <https://doi.org/10.1007/s11894-009-0041-3>
12. Payne I., Grimm L.M. Functional Disorders of Constipation: Paradoxical Puborectalis Contraction and Increased Perineal Descent.

- Clin Colon Rectal Surg.* 2017; 30(1): 22-9. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1593430>
13. Jodorkovsky D., Macura K.J., Gearhart S.L., Dunbar K.B., Stein E.M., Clarke J.O. High-resolution anorectal manometry and dynamic pelvic magnetic resonance imaging are complementary technologies. *J Gastroent Hepat.* 2015; 30(1): 71-4. <https://doi.org/10.1111/jgh.12697>
  14. Hicks C.W., Weinstein M., Wakamatsu M., Pulliam S., Savitt L., Bordeianou L. Are rectoceles the cause or the result of obstructed defaecation syndrome? A prospective anorectal physiology study. *Colorectal Dis.* 2013; 15(8): 993-9. <https://doi.org/10.1111/codi.12213>
  15. Carter D., Gabel M.B. Rectocele-does the size matter? *Int J Colorectal Dis.* 2012; 27(7): 975-80. <https://doi.org/10.1007/s00384-012-1425-7>
  16. Reiner C.S., Tutuian R., Solopova A.E., Pohl D., Marincek B., Weishaupt D. MR defecography in patients with dyssynergic defecation: spectrum of imaging findings and diagnostic value. *Br J Radiol.* 2011; 84(998): 136-44. <https://doi.org/10.1259/bjr/28989463>
  17. Murad-Regadas S.M., Rodrigues L.V., Furtado D.C., et al. The influence of age on posterior pelvic floor dysfunction in women with obstructed defecation syndrome. *Tech Coloproctol.* 2012; 16(3): 227-32. <https://doi.org/10.1007/s10151-012-0831-8>
  18. Schmulson M.J., Drossman D.A. What Is New in Rome IV. *J Neurogastroenterol Motil.* 2017; 23: 151-63. <https://doi.org/10.5056/jnm16214>
  19. Drossman D.A. Functional Gastrointestinal Disorders: History, Pathophysiology, Clinical Features, and Rome IV. *Gastroenterology.* 2016; 150: 1262-79. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.02.032>
  20. Chiarioni G., Whitehead W.E., Pezza V., Morelli A., Bassotti G. Biofeedback Is Superior to Laxatives for Normal Transit Constipation Due to Pelvic Floor Dyssynergia. *Gastroenterology.* 2006; 130: 657-64. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.11.014>
  21. Wang J.Y., Patterson T.R., Hart S.L., Varma M.G. Fecal incontinence: does age matter? Characteristics of older vs. younger women presenting for treatment of fecal incontinence. *Dis Colon Rectum.* 2008; 51(4): 426-31. <https://doi.org/10.1007/s10350-007-9138-7>
  22. Wexner S.D., Cheape J.D., Jorge J.M., et al. Prospective assessment of biofeedback for treatment of paradoxical puborectalis contraction. *Dis Colon Rectum.* 1992; 35: 145-50. <https://doi.org/10.1007/BF02050669>
  23. Battaglia E., Serra A.M., Buonafede G., et al. Long-term study on the effects of visual biofeedback and muscle training as a therapeutic modality in pelvic floor dyssynergia and slow-transit constipation. *Dis Colon Rectum.* 2004; 47(1): 90-5. <https://doi.org/10.1007/s10350-003-0010-0>
  24. Mazor Y., Schnitzler M., Prott G., Jones M.P., Ejova A., Kellow J., et al. Su1608 -A Novel Combined Anorectal Biofeedback and Percutaneous Tibial Nerve Stimulation Protocol for Treating Fecal Incontinence. 2018; 154 (1.6, s.1), 545. [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(18\)32030-4](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(18)32030-4)
  25. Shelygin Yu.A., Biryukov O.M., Titov A.Yu., Fomenko O.Yu., Mudrov A.A. Are there predictors of the results of surgical treatment of rectocele? *Koloproktologiya.* 2015; 1(51): 64-69. (In Russian) [http://www.gnck.ru/pdf/journal\\_1\\_51\\_2015.pdf](http://www.gnck.ru/pdf/journal_1_51_2015.pdf) The link is active on 19.05.20
  26. Orlova L.P., Zarodnyuk I.V., Kuzminov A.M., Dolgatova M.A., Chuprina S.V. Features of radiation diagnostics of rectocele. *Meditsinskaya vizualizatsiya.* 2006; 1: 98-102. (In Russian) [http://vidar.ru/Article.asp?fid=MV\\_2006\\_1\\_98](http://vidar.ru/Article.asp?fid=MV_2006_1_98) The link is active on 19.05.20
  27. Zarodnyuk I.V. Radiological defecography in the examination of coloproctological patients. *Radiologiya - praktika.* 2004; 2: 26-30. (In Russian) [http://www.radp.ru/db/20042/RP\\_2004\\_2\\_26.pdf](http://www.radp.ru/db/20042/RP_2004_2_26.pdf) The link is active on 19.05.20.
  28. Rao S.S.C., Bharucha A.E., Chiarioni G., et al. Anorectal Disorders. *Gastroenterology.* 2016; 150(6): 1430-42. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.02.009>
  29. Fomenko O.Y., Shelygin Y.A., Poryadin G.V., Titov A.Y., Ponomarenko A.A., Mudrov A.A., et al. Functional state of the pelvic floor muscles in patients with the pelvic prolapse. *Koloproktologiya.* 2017; (2): 55-61. (In Russian) <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2017-0-2-55-61>
  30. Bassotti G., Chistolini F., Sietchiping-Nzepa F., de Roberto G., Morelli A., Chiarioni G. Biofeedback for pelvic floor dysfunction in constipation. *BMJ.* 2004; 328: 393-6. <https://doi.org/10.1136/bmj.328.7436.393>
  31. Chiarioni G., Heymen S., Whitehead W.E. Biofeedback therapy for dyssynergic defecation. *World J Gastroenterol.* 2006; 12: 7069-74. <https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i44.7069>
  32. Koh C.E., Young C.J., Young J.M., Solomon M.J. Systematic review of randomized controlled trials of the effectiveness of biofeedback for pelvic floor dysfunction. *Br J Surg.* 2008; 95: 1079-87. <https://doi.org/10.1002/bjs.6303>
  33. Woodward S., Norton C., Chiarelli P. Biofeedback for treatment of chronic idiopathic constipation in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014; 3: CD008486. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008486.pub2>
  34. Chiarioni G. Biofeedback treatment of chronic constipation: myths and misconceptions. *Tech Coloproctol.* 2016; 20(9): 611-8. <https://doi.org/10.1007/s10151-016-1507-6>
  35. Chiarioni G., Bassotti G. Biofeedback therapy for constipation due to dyssynergic defecation: ready for prime time. *Tech Coloproctol.* 2015; 19(6): 331-2. <https://doi.org/10.1007/s10151-015-1314-5>
  36. Stundienė I., Žeromskas P., Pfeifer J., Valantinas J. Good results with transcuteaneous tibial nerve stimulation for advanced chronic constipation treatment. *Lithuanian Surgery.* 2014; 13(3): 192-9. [https://pdfs.semanticscholar.org/5362/f5484b01d-64214c1bdd2d71395d25150158f.pdf?\\_ga=2.49462054.1433391665.1599391214-1695864004.1590909353](https://pdfs.semanticscholar.org/5362/f5484b01d-64214c1bdd2d71395d25150158f.pdf?_ga=2.49462054.1433391665.1599391214-1695864004.1590909353) Ссылка активна на 19.05.20.
  37. Collins B., Norton C., Maeda Y. Percutaneous tibial nerve stimulation for slow transit constipation: a pilot study. *Colorectal Dis.* 2012; 14(4): 165-70. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1318.2011.02820.x>
  38. Rego R.M.P., Machado N.C., Carvalho M.A., Graffunder J.S., Ortolan E.V.P., Lourenção P. Transcutaneous posterior tibial nerve stimulation in children and adolescents with functional constipation: A protocol for an interventional study. *Medicine (Baltimore).* 2019; 98(45): 17755. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000017755>
  39. Zhang N., Huang Z., Xu F., et al. Transcutaneous Neuromodulation at Posterior Tibial Nerve and ST36 for Chronic Constipation. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2014; 2014: 560802. <https://doi.org/10.1155/2014/560802>
  40. Kumar L., Liwanag J., Athanasakos E., Raeburn A., Zarate-Lopez N., Emmanuel A.V. Effectiveness of percutaneous tibial nerve stimulation in managing refractory constipation. *Colorectal Dis.* 2017; 19(1): 45-49. <https://doi.org/10.1111/codi.13388>
  41. Iqbal F., Collins B., Thomas G.P., et al. Bilateral transcutaneous tibial nerve stimulation for chronic constipation. *Colorectal Dis.* 2016; 18(2): 173-178. <https://doi.org/10.1111/codi.13105>

42. Fomenko O.Yu., Kozlov V.A., Aleshin D.V., Biryukov O.M., Belousova S.V., Mudrov A.A., et al. Conservative rehabilitation of patients of older age groups with impaired bowel emptying on the background of pelvic organ prolapse. *Experimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*. 2019; 165(5): 111–20 (In Russian) <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-165-5-111-120> 8
43. Fomenko O.Yu., Titov A.Yu., Birukov O.M., Mudrov A.A., Belousova S.V., Egorova D.V. Diagnosis and conservative treatment of functional disorders of defecation. *Koloproktologiya*. 2016; (3): 48–54. (In Russian) <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2016-0-3-48-54>

**Сведения об авторах:**

**Фоменко Оксана Юрьевна**, доктор мед. наук, доцент, руководитель лаб. клинической патофизиологии ФГБУ «НМИЦ колопроктологии им. А.Н. Рыжих» Минздрава России, e-mail: oksana671@yandex.ru;

**Порядин Геннадий Васильевич**, член-корреспондент РАН, доктор мед. наук, почетный проф. ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, проф. каф. патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета, e-mail: rsmu@rsmu.ru;

**Морозов Сергей Владимирович**, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. отд-ния гастроэнтерологии и гепатологии ФГБУН «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи» Минздрава России, e-mail: morosoffsv@mail.ru;

**Салмаси Жан Мустафеевич**, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, e-mail: rsmu@rsmu.ru;

**Кашников Владимир Николаевич**, доктор мед. наук, заместитель директора по научно-лечебной работе ФГБУ «НМИЦ колопроктологии им. А.Н. Рыжих» Минздрава России, e-mail: info@gnck.ru;

**Бирюков Олег Михайлович**, канд. мед. наук, зав. отд-нием общей и реконструктивной колопроктологии ФГБУ «НМИЦ колопроктологии им. А.Н. Рыжих» Минздрава России, e-mail: info@gnck.ru;

**Козлов Владимир Александрович**, канд. экономич. наук, доцент, науч. сотр. ФГБУ «НМИЦ колопроктологии им. А.Н. Рыжих» Минздрава России, e-mail: info@gnck.ru;

**Реутова Алина Александровна**, зав. отд-нием лечебной физкультуры и физиотерапии ГБУЗ ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова ДЗМ, e-mail: spine67@mail.ru;

**Румянцев Александр Сергеевич**, травматолог-ортопед первого отд-ния нейрохирургии ГБУЗ ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова ДЗМ, e-mail: spine67@mail.ru;

**Белюсова Светлана Васильевна**, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. клинической патофизиологии ФГБУ «НМИЦ колопроктологии им. А.Н. Рыжих» Минздрава России, e-mail: info@gnck.ru

© Коллектив авторов, 2021

УДК 591.182: 612.015.6.018: 612.454: 612.741: 57.084.1

Труш В.В.<sup>1</sup>, Соболев В.И.<sup>2</sup>

## Модуляция альфакальцидолом эффектов дексаметазона на параметры М-ответа скелетной мышцы белых крыс

<sup>1</sup>ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет»,

283050, Донецк, ул. Щорса, д. 46;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»,

298650, Ялта, ул. Стахановская, д. 11

**Цель исследования** – изучение эффективности фармакологических доз альфакальцидола в компенсации негативных эффектов длительно вводимого дексаметазона на параметры М-ответа скелетной мышцы смешанного типа с преимущественным преобладанием гликолитических волокон (*m. tibial anterior*).

**Методика.** Эксперименты проводились на половозрелых крысах-самках (195-205 г), первоначально разделенных на 4 группы: контрольную ( $n=10$ , К-группа), 1-ю опытную ( $n=20$ , дексаметазон, ДМ-группа), 2-ю опытную ( $n=20$ , дексаметазон в комплексе с альфакальцидолом, ДМ+АЛФ-группа) и 3-ю опытную ( $n=20$ , получали альфакальцидол, АЛФ-группа). Препараты вводили в дозах, адекватных терапевтическим для человека, на протяжении 30 и 60 суток: дексаметазон («КРКА», Словения) – 1 раз через день, внутривенно (0,25 мг/кг), альфакальцидол (торговая марка «Альфа Д3-Тева», Catalent Germany Eberbach GmbH, Германия) – ежедневно, перорально, в дозе 0,06 мкг/кг. В последующем каждая опытная группа была разделена на 2 подгруппы ( $n=10$  в каждой) в зависимости от количества суток введения препаратов (30ДМ- и 60ДМ-подгруппы, 30ДМ+АЛФ- и 60ДМ+АЛФ-подгруппы, 30АЛФ- и 60АЛФ-подгруппы). На наркотизированных животных (тиопентал натрия, 100 мг/кг) с помощью метода стимуляционной электромиографии изучали параметры М-ответа передней большеберцовой мышцы в условиях вызванного возбуждения, которое индуцировали путем раздражения сверхпороговым электрическим током малоберцового нерва.

**Результаты.** Введение АЛФ в комплексе с ДМ предотвращало типичное для 30ДМ-группы удлинение латентного периода М-ответов и уменьшение их амплитуды и даже статистически значимо увеличивало в сравнении с контролем амплитуду М-ответов (на 85–60% в 30ДМ+АЛФ и 60ДМ+АЛФ-группах соответственно) и их длительности в 30ДМ+АЛФ-группе (на 60%) с сохранностью тенденции к удлинению М-ответов в 60ДМ+АЛФ-группе. Частота полифазных М-ответов в 30ДМ+АЛФ-группе (50%) была сопоставима с таковой 30ДМ-группы (40%), тогда как в 60ДМ+АЛФ-группе оказалась ниже таковой 60ДМ-группы (20% против 40%). Увеличение амплитуды и длительности М-ответов в 30ДМ+АЛФ-группе на фоне появления полифазных потенциалов (у 50% особей) может свидетельствовать не только о миогенном повреждении нервно-мышечного аппарата, в том числе, коллатеральном спраунтинге частично поврежденных некротическими очагами мышечных волокон, но и в пользу нейрогенной природы расстройств при длительной глюкокортикоидной терапии.

Частота полифазных М-ответов после утомляющей работы (УР) у животных ДМ-групп несколько уменьшалась относительно исходной, тогда как у крыс ДМ+АЛФ-групп полифазные М-ответы после УР не регистрировались вообще. Данный факт указывает в пользу разных причин полифазии М-ответов в ДМ- и ДМ+АЛФ-группах: в ДМ-группах основной причиной полифазии является недостаточность нормальных мышечных волокон в составе двигательных единиц (ДЕ) для формирования полноценного М-ответа, тогда как в ДМ+АЛФ-группах – уменьшение степени синхронизации возбуждения патологически измененных нервных или мышечных волокон.

АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, предотвращал типичное для ДМ-групп уменьшение массы мышцы и количества активируемых ее ДЕ, но тенденция к уменьшению массы мышцы в случае введения животным пары препаратов всё же имела место. Спустя 30 сут введения пары препаратов (ДМ+АЛФ) характер изменения параметров М-ответа и количества активируемых ДЕ мышцы после УР был во многом аналогичен таковому 30ДМ-группы. Вместе с тем, спустя 60 сут введения пары препаратов (ДМ+АЛФ) отмечалась менее выраженная, но значимая в сравнении с контролем степень уменьшения амплитуды М-ответов после УР на фоне более выраженного увеличения их длительности, но при этом сравнимого с контролем уменьшения количества активируемых ДЕ мышцы, что косвенно свидетельствует в пользу увеличения плотности ДЕ мышцы и способности АЛФ ослаблять повышенную ее утомляемость, вызванную введением ДМ. Вместе с тем, независимо от введения АЛФ у животных, получавших ДМ, имело место нетипичное для контроля удлинение латентного периода М-ответов мышцы после УР, свидетельствующее в пользу большей утомляемости синапсов и возможно сниженной надежности синаптической передачи.

**Заключение.** Полученные в модельных экспериментах на животных данные косвенно указывают в пользу менее выраженных дистрофических изменений мышечных волокон и частичной компенсации повышенной утомляемости мышцы при комплексном введении ДМ+АЛФ в сравнении с изолированным введением ДМ, что позволяет рекомендовать АЛФ как одно из средств для ослабления стероидной миопатии при длительной глюкокортикоидной терапии.

**Ключевые слова:** скелетная мышца; дексаметазон; ятрогенный гиперкортицизм; стероидная миопатия; альфакальцидол

**Для цитирования:** Труш В.В., Соболев В.И. Модуляция альфакальцидолом эффектов дексаметазона на параметры М-ответа скелетной мышцы белых крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65 (2): 53-66.

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2021.02.53-66

**Для корреспонденции:** Труш Вера Владимировна, e-mail: ver.trush@yandex.ru

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Труш В.В., Соболев В.И.; сбор и обработка материала – Труш В.В.; статистическая обработка – Соболев В.И.; написание текста – Труш В.В.; редактирование – Соболев В.И.; утверждение окончательной версии статьи – все соавторы.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 30.09.2020

Принята к печати 25.03.2021

Опубликована 30.06.2021

Trush V.V.<sup>1</sup>, Sobolev V.I.<sup>2</sup>

## Alfacalcidol modulation of the dexamethazone effects on parameters of M-response of skeletal muscle of white rats

<sup>1</sup>Donetsk National University,  
Shchorsa St. 46, Donetsk 283050, Ukraine;

<sup>2</sup>V.I. Vernadsky Crimean Federal University,  
Stakhanovskaya St. 11, Yalta 298650, Republic of Crimea, Russia

**The aim** of this research was to evaluate the effectiveness of pharmacological doses of alfacalcidol (ALF, 0.06 µg/kg/day) in compensating the negative effects of chronic dexamethasone treatment (DM, 0.25 mg/kg/2 days, for 30 and 60 days) on parameters of the M-response of mixed type skeletal muscle with a predominance of glycolytic fibers (*m. tibialis anterior*).

**Methods.** The experiments were performed on sexually mature female rats (195-205 g) initially divided into four groups: 1) control group ( $n=10$ , C-group); 2) first experimental group ( $n=20$ , treated with dexamethasone, DM-group); 3) second experimental group ( $n=20$ , treated with dexamethasone in combination with alfacalcidol, DM+ALF-group); 4) third experimental group ( $n=20$ , treated with alfacalcidol, ALF-group). The drugs were administered in doses equivalent to the human therapeutic dose for 30 and 60 days: 1) dexamethasone (KRKA, Slovenia) 0.25 mg/kg once every 2 days, i.p.; 2) alfacalcidol (Alpha D3-Teva, Catalent Germany Eberbach GmbH, Germany) 0.06 µg/kg daily, p.o. Each experimental group was divided into two subgroups of 10 each, depending on the number of treatment days: 30DM- and 60DM-subgroups; 30DM+ALF- and 60DM+ALF-subgroups; 30ALF- and 60ALF-subgroups. Electromyography experiments were conducted on rats anesthetized with sodium thiopental (100 mg/kg). Parameters of the M-response of the tibialis anterior muscle were studied during suprathreshold electrical stimulation of the fibular nerve.

**Results.** ALF in combination with DM prevented the lengthening of the latent period of the M-response and a decrease in its amplitude, as was typical for the 30DM-subgroup. ALF in combination with DM also increased the amplitude of M-responses compared to the control ( $p<0.05$ ) and by 85 and 60% in the 30DM+ALF- and 60DM+ALF-subgroups, respectively. The duration of the latent period of M-response in the 30DM+ALF-group increased by 60%, and there was a tendency to preserve the lengthening of M-response in the 60DM+ALF-subgroup. The prevalence of polyphasic M-responses in the 30DM+ALF-subgroup (50%) was comparable to that of the 30DM-subgroup (40%), while in the 60DM+ALF-subgroup, it was lower than that of the 60DM-subgroup (20% vs 40%). Increases in the amplitude and duration of M-responses in the 30DM+ALF-group with the appearance of polyphasic potentials in 50% of the rats may indicate myogenic damage of the neuromuscular apparatus, including collateral sprouting of muscle fibers partially cleaved by necrotic foci. These increases may also indicate neurogenic genesis of disorders associated with long-term glucocorticoid therapy. The frequency of polyphasic M-responses after fatigable work (FW) in animals of the DM-groups partly decreased relative to the initial value, whereas in rats of the DM+ALF-groups, polyphasic M-responses after FW were absent. This fact indicates different causes of the polyphasicity of M-responses in the DM- and DM+ALF-subgroups. The main cause of polyphasicity in the DM-groups was the failure of normal muscle fibers in motor units (MU) to generate a full-fledged M-response, whereas the main cause of polyphasicity in DM+ALF-subgroups was a decrease in the degree of excitement synchronization in pathologically altered nerve or muscle fibers. ALF, when administered in combination with DM, prevented a decrease in muscle mass and the number of activated MUs, which was typical for DM-groups. However, there was still a tendency for a decrease in muscle mass when the pair of drugs was administered. After 30 days of the DM+ALF treatment, the nature of changes in the M-response parameters and the number of activated muscle MUs after FW was similar to that of the 30DM-subgroup in many respects. At the same time, after 60 days of the DM+ALF treatment, a less pronounced but significant decrease in the amplitude of M-responses after FW was noted in comparison with the control ( $p<0.05$ ). This occurred in the presence of a more pronounced increase in the duration of M-responses, but at the same time was comparable with a decrease in the number of activated muscle MUs in the control group. These facts indirectly support an increase in muscle MU density and the ability of ALF to weaken the increased fatigability caused by DM administration. At the same time, the lengthening of the latency period of muscle M-responses after FW was typical for the animals treated with DM regardless of ALF administration, which was not typ-

ical for control rats. This fact is evidence favoring greater synaptic fatiguability or possibly reduced reliability of synaptic transmission with DM administration regardless of ALF.

**Conclusion.** The results of the model experiments provided indirect evidence that dystrophic changes in muscle fibers and increased muscle fatiguability produced by DM alone were reduced by ALF combined with DM. Thus, ALF can be recommended as a therapy to alleviate steroid myopathy during prolonged glucocorticoid therapy.

**Keywords:** skeletal muscle; dexamethasone; iatrogenic hypercorticism; steroid myopathy; alfacalcidol

**For citation:** Trush V.V., Sobolev V.I. Alfacalcidol modulation of the dexamethasone effects on parameters of M-response of skeletal muscle of white rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65 (2): 53-66. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.53-66

**For correspondence:** Vera V. Trush, Candidate of Medical Sciences, Head of the Department of Physiology of Human and Animals of State Educational Institution of Higher Education «Donetsk national university», 46 Shchorsa St., Donetsk 83050, Ukraine, e-mail: ver.trush@yandex.ru

**Contribution:** research concept and design – Trush V.V., Sobolev V.I.; material collecting and processing – Trush V.V.; statistical processing – Sobolev V.I.; writing text – Trush V.V.; text editing – Sobolev V.I. Approval of the final version of the article – all co-authors.

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

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

#### Information about authors:

Trush V.V., <http://orcid.org/0000-0001-8514-8431>

Sobolev V.I., <http://orcid.org/0000-0001-9318-5224>

Received 30.09.2020

Accepted 25.03.2021

Published 30.06.2021

## Введение

Глюкокортикоиды (ГК) и их синтетические аналоги, несмотря на достижения современной фармако-терапии, по-прежнему остаются наиболее эффективными лекарственными средствами, обладающими очень быстрым, выраженным и долго сохраняющимся противовоспалительным и иммуносупрессивным действием [1]. Наряду с полезными терапевтическими эффектами, ГК, особенно при длительном введении в организм, оказывают негативное влияние на ряд структур организма, в которых усиливают катаболические процессы, в том числе и на опорно-двигательный аппарат [2]. Нарушения в опорно-двигательной системе при гиперкортицизме проявляются в виде остеопении, остеопороза и миопатических изменений особенно в мышцах с преобладанием гликолитических мышечных волокон (МВ) [3, 4].

При достаточно хорошей изученности клиники стероидной миопатии, в том числе ятрогенного характера, многие механизмы ее развития до конца не установлены. Так, если одни специалисты [4-6] считают, что основной причиной функциональных расстройств в нервно-мышечном аппарате (НМА) при гиперкортицизме являются поражения собственно МВ, то другие [7-9] не исключают нейрогенного характера расстройств.

Еще менее изученным остается вопрос относительно эффективности различных средств в компенсации стероидных остеопороза и миопатии. В более ранних

наших исследованиях показана способность близких к физиологическим доз тиреоидных гормонов [10], терапевтических доз андрогенов [11], аминокислот таурина [12] и аргинина [13], аденоагонистов, в том числе селективного  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола [14, 15], компенсировать некоторые негативные эффекты длительно вводимых ГК на скелетную мускулатуру.

В качестве рабочей гипотезы в настоящей работе было предположено, что относительно эффективным средством в компенсации стероидной миопатии может оказаться частично активированная форма витамина  $D_3$  – альфакальцидол (АЛФ), или пре-D-гормон – в связи с установленными его эффектами и механизмами действия.

Известно, что длительная ГК-терапия предопределяет снижение активности 25 $\alpha$ -гидроксилазы печени и соответственно нарушение образования кальцидиола и кальцитриола в организме даже при достаточном экзогенном поступлении витамина D [16], а также снижение чувствительности тканей к кальцитриолу из-за ослабления экспрессии рецепторов к нему [17]. Кроме того, ГК ослабляют абсорбцию кальция из кишечного содержимого [18] и стимулируют экскрецию кальция в канальцах почек, тем самым обуславливая резко отрицательный баланс кальция, что предопределяет мышечные спазмы в сочетании с гиперкальциурией, гипокальциемией и вторичным гиперпаратиреозом

при отсутствии гипомagneмии [19]. Гипокальциемия и собственно ГК вызывают повышение секреции паратормона и снижение уровня ИФР-I, что обуславливает развитие остеопении и остеопороза, а также нарушение анаболического действия ИФР-I на костную, хрящевую, мышечную и другие ткани [3].

АЛФ в такой ситуации является весьма эффективным средством для предотвращения витамин D-дефицита и частичной компенсации гипокальциемии, остеопении и остеопороза, в связи с его способностью повышать всасывание кальция в желудочно-кишечном тракте [20] и обратную реабсорбцию кальция в канальцах почек [21], уменьшать резорбцию кальция из костной ткани [22], стимулировать экспрессию ИФР-I в различных тканях организма [23] и повышать экспрессию рецепторов к ИФР-I [24]. Кроме того, в отличие от витаминов D<sub>2</sub> и D<sub>3</sub>, АЛФ превращается в гормонально активную форму – кальцитриол – в результате однократного гидроксилирования в различных структурах организма [25], но при этом, в отличие от кальцитриола, более безопасен в плане возможного развития гиперкальциемии [26].

Активный метаболит АЛФ – кальцитриол – через активацию PPAR $\alpha$  вызывает снижение внутриклеточной концентрации жирных кислот и уменьшение содержания липопротеинов очень низкой плотности и триглицеридов в плазме крови [27], что предохраняет его способность замедлять развитие атеросклероза и ослаблять выраженность таких побочных явлений ГК-терапии, как гиперлипемия и гипергликемия [28]. Установлена способность кальцитриола повышать чувствительность клеток периферических тканей к инсулину [29], что также важно при длительной ГК-терапии, сопровождающейся ослаблением эффективности влияния инсулина на ткани-мишени [30].

Недавними исследованиями [31] показана способность активного метаболита АЛФ – кальцитриола – модулировать активность генов, регулирующих рост и дифференцировку МВ, особенно II типа, что может оказаться полезным для компенсации стероидной миопатии. Известно также, что дефицит витамина D может предохранять снижение синтеза мышечных белков, уменьшение поглощения кальция саркоплазматическим ретикуломом, дегенеративные изменения МВ и усиление их апоптоза [32, 33]. В модельных экспериментах на животных с сахарным диабетом II типа показана эффективность АЛФ, применяемого изолированно или в комбинации с физическими нагрузками, в предотвращении уменьшения площади поперечного сечения МВ передней большеберцовой мышцы на ранней стадии лечения, что достигалось благодаря

способности АЛФ стимулировать дифференцировку МВ и подавлять мышечные катаболические гены [34]. Наконец, в некоторых работах [35] установлена способность АЛФ ослаблять выраженность некоторых морфофункциональных нарушений в скелетных мышцах (СМ) при длительной ГК-терапии. Вместе с тем, позитивные эффекты АЛФ на мышечный аппарат признаются далеко не всеми специалистами [36, 37].

**Цель работы** – изучение эффективности кальцидола АЛФ (фармакологическая доза 0,06 мкг/кг/сут) в компенсации негативных эффектов длительно вводимого дексаметазона (ДМ) (0,25 мг/кг/2-е сут, на протяжении 30 и 60 сут) на параметры М-ответа скелетной мышцы СМ смешанного типа с преимущественным преобладанием гликолитических волокон (*m. tibial anterior*).

### Методика

Все эксперименты выполнены в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [38]. Животные содержались в помещении кафедры физиологии человека и животных Донецкого национального университета с температурой воздуха 22 °С и 12-часовым циклом свет/темнота, имели свободный доступ к воде и пище. Протокол эксперимента, содержание животных и выведение их из опыта были составлены в соответствии с Европейской конвенцией о защите животных, используемых в эксперименте (директива 86/609/ЕЕС). Работа одобрена этическим комитетом университета.

Исследования проводились на 70 половозрелых молодых крысах-самках 4–5-месячного возраста с исходной массой тела 195–205 г. Выбор особей женского пола в качестве объекта исследования был обусловлен большей их чувствительностью, в сравнении с особями мужского пола, к катаболическому действию ГК. Животные были случайным образом первоначально разделены на 4 группы: контрольную (интактная, К-группа,  $n=10$ ), 1-ю опытную (дексаметазон, ДМ-группа,  $n=20$ ), 2-ю опытную (дексаметазон в комплексе с альфакальцидолом, ДМ+АЛФ-группа,  $n=20$ ) и 3-ю опытную (альфакальцидол, АЛФ-группа,  $n=20$ ). Препараты вводили в дозах, адекватных терапевтическим для человека, на протяжении 30 и 60 сут. Дексаметазон (KRKA, Словения, 0,25 мг/кг) вводили внутривентриально через день, альфакальцидол (торговая марка «Альфа D3-Тева» производства фирмы Catalent Germany Eberbach GmbH, Германия) – в дозе 0,06 мкг/кг, ежедневно, перорально. Соответственно в последующем каждая опытная группа была разделена на 2 подгруппы ( $n=10$  в каждой) в зависимости от количества суток введения препара-



тов. Так, в пределах ДМ-группы были выделены 30ДМ- и 60ДМ-подгруппы, в пределах ДМ+АЛФ-группы – 30ДМ+АЛФ- и 60ДМ+АЛФ-подгруппы, АЛФ-группа была также разделена на 30АЛФ- и 60АЛФ-подгруппы. Такой подход позволил нам изучать характер функциональных изменений в скелетной мышце в динамике введения препаратов.

По окончании срока введения препаратов на наркотизированных животных (тиопентал натрия, 100 мг/кг, внутривенно) проводили острый опыт, в ходе которого изучали параметры М-ответа передней большеберцовой мышцы (*m. tibialis anterior*).

У наркотизированного животного препаровали в области бедра малоберцовый нерв и на расстоянии 1 см проксимальнее коленного сустава подвигали под него раздражающие электроды, а в среднюю часть передней большеберцовой мышцы вводили отводящие биполярные игольчатые стальные электроды с межэлектродным расстоянием 1 мм.

Для регистрации М-ответа мышцы использовалась экспериментальная установка, состоящая из двух каналов: канала электростимулятора и электромиографического. Канал электростимулятора представлен собственно электростимулятором, построенным на основе функционального генератора ICL8038CCDP, оптронной гальванической развязкой и биполярными игольчатыми стальными электродами с межэлектродным расстоянием 1 мм. Электромиографический канал представлен отводящими биполярными игольчатыми стальными электродами с межэлектродным расстоянием 1 мм и электромиографическим биоусилителем, построенным на основе измерительного усилителя INA118. Оба канала были связаны с регистрирующим устройством – запоминающим цифровым осциллографом Tektronix (TDS2004C).

*Ход опыта.* Вначале регистрировали одиночный М-ответ мышцы, индуцированный путем раздражения малоберцового нерва сверхпороговыми электрическими импульсами длительностью 150 мкс каждый с частотой 0,2 имп/с и силой тока 500 мкА (стабилизатор тока). На основании записей одиночных М-ответов мышцы определяли их латентный период, амплитуду и длительность, а также оценивали форму (двух-, трех- фазные, поли- и псевдополифазные).

Затем путем постепенного увеличения напряжения импульсов тока от 0,01 до 2 В с частотой 10 имп/с в течение 4 с записывали серию М-ответов мышцы возрастающей амплитуды. Для нанесения раздражения на малоберцовый нерв стимулами нарастающей интенсивности использовали специальную установку, включающую 6 блоков: блок управления запуском, блок генерации оди-

ночного линейно-нарастающего импульса заданной длительности, блок генерации импульсов стимулятора с заранее установленной частотой, блок смесителя сигналов, буферный усилитель тока и цифровой запоминающий осциллограф. На основании процентного изменения амплитуды максимального М-ответа относительно амплитуды минимального определяли приблизительное количество активируемых двигательных единиц (ДЕ) мышцы (методика V. Galea [39]). После этого мышца выполняла утомляющую работу (УР), которую моделировали путем вызванного тетанического ее сокращения (частота импульсов стимуляции малоберцового нерва – 70 имп/с, длительность импульсов 0,5 мс и сила тока 1000 мкА) с внешней нагрузкой 70 г вплоть до полного ее расслабления на фоне продолжающейся электрической стимуляции малоберцового нерва.

По окончании выполнения мышцей УР вновь регистрировали серию М-ответов при раздражении малоберцового нерва стимулами нарастающей амплитуды (от 0,01 до 2 В) и одиночный М-ответ мышцы при раздражении малоберцового нерва с частотой 0,2 имп/с. На основании изменения параметров М-ответа мышцы после выполнения УР относительно соответствующих исходных значений судили об утомляемости НМА и скорости его восстановления после утомления у животных разных групп.

По окончании острого опыта в условиях глубокого наркоза проводили эвтаназию животных путем введения летальной дозы (300 мг/кг) тиопентала натрия.

*Статистическая обработка экспериментальных данных.* Оценку статистической значимости различий между центральными тенденциями сравниваемых групп проводили с использованием t-критерия Стьюдента, предварительно убедившись в том, что распределение значений в исследуемых вариационных рядах близко к нормальному (W-тест Шапиро–Уилка, Statistica, 7.0). С целью дополнительного анализа при сравнении вариационных рядов использовался также двухвыборочный F-тест для дисперсий, что позволило проводить оценку на независимость двух множеств с высокой вариабельностью. Во всех случаях сравнение анализируемых показателей и оценку статистической значимости различий проводили на основании проверки нулевой и альтернативной гипотез. Значения  $p < 0,05$  рассматривали как статистически значимые. Исследуемые параметры выражали в виде «среднее  $\pm$  стандартная ошибка».

## Результаты

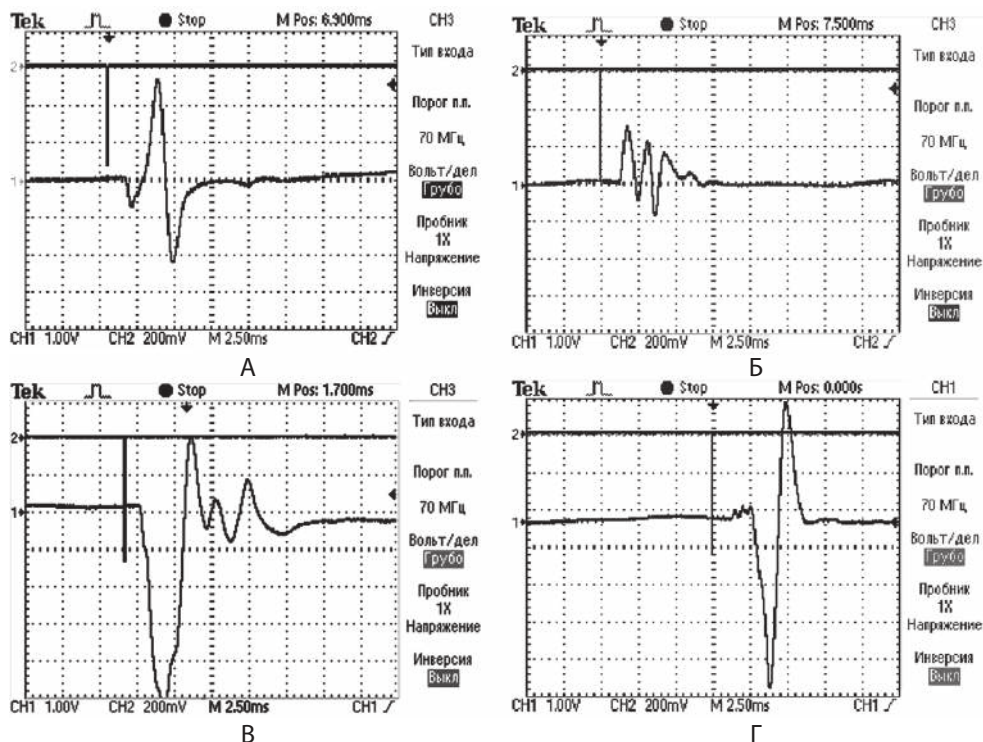
На первом этапе исследований анализировался характер изменения М-ответов мышцы животных, по-

лучавших ДМ изолированно и в комплексе с АЛФ. Образцы записей М-ответов мышцы животных разных групп приведены на рисунке.

Анализ полученных данных показал, что после 30 сут изолированного введения ДМ (у животных 30ДМ-группы) наблюдалось существенное ухудшение в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) параметров М-ответа мышцы: удлинение его латентного периода (на 25%) и уменьшение амплитуды (на 31%) на фоне неизменной длительности, а также появление у 40% особей полифазных и псевдополифазных потенциалов уменьшенной амплитуды (табл. 1). Данные факты на фоне уменьшения ( $p < 0,05$  относительно контроля) массы мышцы (на 9%) и количества активируемых ДЕ на 43% (табл. 2) косвенно указывают в пользу миопатических изменений в ней. Кроме того, удлинение латентного периода М-ответа может быть связано с замедлением синаптической передачи, а уменьшение его амплитуды на фоне неизменной длительности – с десинхронизацией возбуждения МВ вследствие повышения их гетерогенности, а также частичным выключением патологически измененных МВ из возбуждения.

Наконец, одной из причин полифазии М-ответов у животных 30ДМ-группы может быть разная скорость проведения ПД по различным нервным волокнам двигательного нерва и, в частности, ее уменьшение в волокнах, поврежденных вследствие демиелинизации или патологии осевого цилиндра [6], а не только повышение степени функциональной неоднородности собственно МВ. В пользу возможности такого предположения свидетельствуют исследования ряда специалистов [8, 9], наблюдавших частичное повреждение аксонов и соответственно замедление проведения возбуждения по ним у людей с ятрогенным гиперкортицизмом.

По окончании 2-х-месячного периода введения дексаметазона (у животных 60ДМ-группы) латентный период М-ответа оставался удлиненным относительно контроля (на 25%,  $p < 0,05$  на основании двухвыборочного F-теста для дисперсий), его амплитуда несколько возрастала (на 50% относительно контроля,  $p < 0,05$  на основании двухвыборочного F-теста для дисперсий), и длительность М-ответа существенно увеличивалась – на 64%,  $p < 0,05$  относительно контроля (табл. 1), но при этом у 40% особей регистрировались полифазные М-ответы несколько уменьшенной ам-



Образцы записей одиночных М-ответов мышцы контрольного животного (А) и крыс, получавших дексаметазон на протяжении 30 сут изолированно (Б) и в комплексе с альфакальцидолом (В), а также животного, получавшего альфакальцидол на протяжении 30 сут (Г). По каналу 2 (CH2) показана отметка времени, по каналу 1 (CH1) – запись М-ответа (усиление амплитуды М-ответа составляет 1V = 0,5 mV).

плитуды. Кроме того, обращает внимание большая, чем в контроле, дисперсия латентного периода и амплитуды М-ответа у животных 60ДМ-группы (0,12 и 4,8 соответственно против дисперсии этих параметров в 0,03 и 0,5 в контроле). Наблюдаемая нами высокая вариабельность латентного периода и амплитуды М-ответа у особей 60ДМ-группы обусловлена тем, что

у части животных эти параметры фактически возвращались к контрольному уровню, а у других — оставались измененными. Так, у 40% особей 60ДМ-группы амплитуда М-ответа оставалась уменьшенной (при том, что М-ответы у них были полифазными), а у части крыс она, напротив, превышала контрольный уровень, что на фоне удлинения М-ответов, вероятнее все-

Таблица 1

**Средние значения ( $\bar{X} \pm m$ ) некоторых параметров М-ответа передней большеберцовой мышцы крыс контрольной группы и животных, получавших дексаметазон (ДМ) и альфакальцидол (АЛФ) изолированно и комплексно (ДМ+АЛФ)**

Группа животных (n=10)	Параметры М-ответа				
	Латентный период, мс	Амплитуда, мВ	Длительность, мс	% полифазных потенциалов	
				до УР	после УР
К	1,2±0,05	2,6±0,22	5,5±0,51	0	0
30ДМ	1,5±0,06, [+25*]	1,8±0,20, [-31*]	5,7±0,65	40	20
30АЛФ	1,3±0,06	4,0±0,38, [+53*]	6,2±0,63	0	0
30ДМ+АЛФ	1,3±0,07	4,8±0,40, [+85*]	8,8±0,39, [+60*]	50	0
60ДМ	1,5±0,11, [+25**]	3,9±0,70, [+50**]	9,0±1,02, [+64*]	40	20
60АЛФ	1,3±0,06	4,4±0,44, [+68*]	6,6±0,51	0	0
60ДМ+АЛФ	1,2±0,06	4,2±0,46, [+60*]	6,6±0,36	20	0

\* — в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения контрольной группы (в %,  $p < 0,05$ , t-критерий Стьюдента); \*\* — в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения контрольной группы (в %,  $p < 0,05$  на основании двухвыборочного F-теста для дисперсий).

Таблица 2

**Средние значения ( $\bar{X} \pm m$ ) массы передней большеберцовой мышцы и количества активируемых двигательных единиц у контрольных животных и крыс, получавших дексаметазон (ДМ) и альфакальцидол (АЛФ) изолированно и комплексно (ДМ+АЛФ)**

Группа животных	Масса мышцы, мг	Количество активируемых двигательных единиц	
		исходное (до УР)	после УР
К	399,8±6,81	14,1±1,21	10,4±0,91 (-26±2,0)
30ДМ	363,9±8,50 [-9*]	8,1±0,95 [-43*]	5,3±0,61 (-34±2,4), [-49*]
30АЛФ	399,0±8,70	17,1±1,76	12,2±1,15 (-28±2,6)
30ДМ+АЛФ	372,9±10,53	16,4±1,71	7,7±0,67 (-53±6,6), [-26*]
60ДМ	366,3±10,54 [-8*]	8,4±0,88 [-40*]	5,4±0,62 (-36±3,5), [-48*]
60АЛФ	509,0±11,31 [+27*]	16,2±1,81	11,3±1,13 (-30±2,7)
60ДМ+АЛФ	377,2±11,18	17,2±2,10	11,5±1,28 (-33±3,4)

\* — в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно контрольной группы (в %,  $p < 0,05$ ); · — в круглых скобках указана статистически значимая разница показателя после выполнения утомляющей работы (УР) относительно исходного значения соответствующей группы (в %,  $p < 0,05$ ).

го, свидетельствует в пользу повышения плотности ДЕ мышцы. Такого рода картина на определенном этапе терапии всегда имеет место при постепенной адаптации к длительному введению препарата в постоянной дозе, поскольку процесс нормализации осуществляется у разных особей с разной скоростью, что и вызывает закономерное увеличение степени вариабельности изучаемых показателей. Наконец, у животных 60ДМ-группы сохранялись уменьшенными относительно контроля ( $p < 0,05$ ) масса мышцы (на 8%) и количество активируемых ДЕ на 40% (табл. 2).

Некоторое увеличение в 60ДМ-группе амплитуды М-ответов на фоне существенного увеличения их длительности при сохранности уменьшения количества активируемых ДЕ мышцы косвенно свидетельствуют в пользу возможного увеличения плотности ДЕ за счет коллатерального спраунтинга фрагментов дистрофически измененных МВ, разделенных некротическим очагом.

Введение АЛФ в комплексе с ДМ предотвратило типичное для 30ДМ-группы удлинение латентного периода М-ответов и уменьшение их амплитуды и даже обусловило увеличение амплитуды М-ответов (на 85-60% в подгруппах 30ДМ+АЛФ и 60ДМ+АЛФ соответственно) на фоне значимого ( $p < 0,05$ ) относительно контроля увеличения их длительности в 30ДМ+АЛФ-группе (на 60%) с сохранностью тенденции к удлинению М-ответов в 60ДМ+АЛФ-группе (табл. 1). Следует отметить, что увеличение амплитуды М-ответов было характерно и для животных, получавших АЛФ изолированно, но в АЛФ-группах это увеличение амплитуды М-ответов не было сопряжено с их удлинением, типичным для 30ДМ+АЛФ-группы.

Кроме того, АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, предотвратил типичное для ДМ-групп уменьшение массы мышцы и количества активируемых ДЕ, хотя тенденция к уменьшению массы мышцы в ДМ+АЛФ-группах все же имела место (табл. 2).

Частота полифазных М-ответов в 30ДМ+АЛФ-группе (50%) была сопоставима с таковой 30ДМ-группы (40%), тогда как в 60ДМ+АЛФ-группе она оказалась существенно ниже в сравнении с 60ДМ-группой: 20% против 40% (табл. 1).

Увеличение амплитуды М-ответов на фоне возрастания их длительности и тенденции к уменьшению массы мышцы, типичные для 30ДМ+АЛФ-группы, по всей видимости, свидетельствуют в пользу увеличения плотности МВ в составе ДЕ вследствие их расщепления, а также регенерации фрагментов частично расщепленных волокон, получивших каждый самостоятельную иннервацию (на стадии, когда они были разделены некротическими участками). При этом

отсутствие у животных ДМ+АЛФ-групп значимого уменьшения количества активируемых ДЕ мышцы, типичное для ДМ-групп, указывает в пользу способности АЛФ ослаблять выраженность катаболических процессов в МВ, особенно гликолитического типа, вызванных длительным введением ДМ.

Кроме того, как уже обсуждалось ранее, у крыс ДМ-групп признаки эффективного коллатерального спраунтинга наблюдались только спустя 60 сут введения ДМ, о чем свидетельствовало некоторое повышение амплитуды М-ответов на фоне их удлинения, но при этом сохранности уменьшения массы мышцы и количества активируемых ее ДЕ. У животных же, получавших пару препаратов (ДМ+АЛФ), эффективный коллатеральный спраунтинг частично дегенеративно измененных МВ развивался гораздо раньше (уже спустя 30 сут введения пары препаратов), и собственно степень дегенеративных изменений МВ была гораздо меньшей, чем у животных 30ДМ-группы. В пользу этого свидетельствует отсутствие значимого уменьшения относительно контроля массы мышцы (наблюдалась тенденция к ее уменьшению) и количества активируемых ДЕ. Кроме того, у крыс 30ДМ+АЛФ-группы амплитуда М-ответов не снижалась, как в 30ДМ-группе, а, напротив, повышалась, на основании чего можно предположить, что МВ характеризовались нормальной, а не сниженной амплитудой ПД, что еще раз свидетельствует в пользу отсутствия выраженных дистрофических изменений.

Вместе с тем, появление у 50% особей 30ДМ+АЛФ-группы полифазных М-ответов увеличенной амплитуды и длительности может свидетельствовать не только о миогенном повреждении НМА, в том числе, коллатеральном спраунтинге частично расщепленных некротическими очагами МВ, но и в пользу нейрогенного генеза расстройств при длительной ГК-терапии.

Очевидно в условиях тяжелых миопатических нарушений, типичных для 30ДМ-группы, признаки нейрогенных нарушений не проявляются, поскольку маскируются существенным ухудшением параметров М-ответа в связи с выраженными дистрофическими изменениями МВ. При комплексном введении пары препаратов (ДМ+АЛФ) и соответственно отсутствию признаков выраженных дистрофических изменений МВ, нейрогенные нарушения, вызванные длительным введением ГК, могут проявиться.

Данный факт частично объясняет противоречивость данных литературы относительно природы нервно-мышечных расстройств при гиперкортицизме: одни авторы [4, 5] указывают на миогенную природу нарушений, другие – наблюдали признаки нейрогенных

расстройств у людей с гиперкортицизмом [7, 40] или у животных при моделировании ДМ-гиперкортицизма [41]. На самом деле и те и другие расстройства, вероятнее всего, имеют место при гиперкортицизме. Признаки одновременно и нейрогенного, и миопатического изменения в мышцах людей с гиперкортицизмом наблюдал также В.Я. Неретин и соавт. [9].

С целью более детальной оценки степени патологических изменений в передней большеберцовой мышце в динамике развития ДМ-гиперкортицизма на втором этапе исследований мы сочли необходимым проанализировать характер изменения параметров М-ответа после выполнения утомляющей работы (УР), выступающей в роли своеобразного теста на выявление скрытых патологий в НМА.

Анализ полученных данных показал, что длительное введение ДМ обуславливало большую утомляемость и меньшую, в сравнении с контролем, способность мышцы к восстановлению после УР. В пользу этого свидетельствует более выраженное в сравнении с контролем ухудшение параметров М-ответа мышцы животных ДМ-групп после выполнения УР. В частности, для ДМ-групп было характерно большее в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) снижение относительно исходного уровня амплитуды М-ответов (на 58% в 60ДМ-группе против снижения в 36% у контроля) и более выраженное увеличение их длительности (на 93% в 30ДМ-группе против удлинения в 39% у контроля), а также нетипичное для К-группы удлинение латентного периода М-ответов (на 33–36% в 30ДМ- и 60ДМ-группах) после УР (табл. 3). Кроме того, для ДМ-групп было характерно и значимо большее в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) уменьшение количества активируемых ДЕ мышцы после УР (на 34–36% в 30ДМ- и 60ДМ-группах против уменьшения в 26% у контроля) (табл. 2). Данный факт, наряду с более выраженным ухудшением параметров М-ответа после выполнения УР у животных ДМ-групп в сравнении с контролем, еще раз подтверждает более высокую утомляемость мышцы крыс с ятрогенным гиперкортицизмом.

Анализ изменения параметров М-ответа мышцы крыс ДМ+АЛФ-групп после выполнения УР выявил как некоторые общие, так и особенные черты в сравнении с ДМ-группами. Так, в случае комплексного применения ДМ+АЛФ, после 30 сут введения пары препаратов характер изменения параметров М-ответа и количества активируемых ДЕ мышцы в 30ДМ+АЛФ-группе после УР был во многом аналогичен таковому 30ДМ-группы (табл. 2, 3). В частности, для мышцы животных 30ДМ+АЛФ-группы, подобно 30ДМ-группе, было характерно нетипичное для контроля удлинение латентного периода

М-ответа после УР (на 34%), и более выраженное, чем в контроле ( $p < 0,05$ ) уменьшение количества активируемых ДЕ мышцы после УР, но при этом гораздо менее выраженное, чем в 30ДМ-группе увеличение длительности М-ответов после УР, тогда как их амплитуда уменьшалась примерно в такой же степени, как в 30ДМ-группе и в контроле.

После 60 сут введения пары препаратов отмечалась менее выраженная не только в сравнении с 60ДМ-группой, но и с контролем ( $p < 0,05$ ), степень уменьшения амплитуды М-ответов после УР на фоне более выраженного в сравнении с 60ДМ-группой и контролем ( $p < 0,05$ ) увеличения длительности М-ответов (табл. 3), но при этом сравнимого с контролем уменьшения количества активируемых ДЕ мышцы (табл. 2). Вместе с тем, в 60ДМ+АЛФ-группе сохранялось типичное для 30ДМ+АЛФ- и обеих ДМ-групп удлинение латентного периода М-ответа после УР относительно исходного значения (табл. 3).

Данные факты позволяют сделать, как минимум, 2 предположения. Во-первых, менее выраженная степень уменьшения амплитуды М-ответов на фоне более выраженного увеличения их длительности, но при

Таблица 3

Средние значения ( $\bar{X} \pm m$ ) параметров М-ответа передней большеберцовой мышцы после выполнения утомляющей работы у крыс контрольной группы и животных, получавших дексаметазон (ДМ) и альфакальцидол (АЛФ) изолированно и комплексно (ДМ+АЛФ)

Группа животных	Латентный период, мс	Амплитуда, мВ	Длительность, мс
К	1,3±0,06 (9±0,8)	1,7±0,25 (-36±8,4•)	7,6±0,62 (+38±3,9•)
30ДМ	1,9±0,12* (+34±6,8•*)	1,0±0,18* (-47±5,3•)	11,0±1,12* (+93±1,21•*)
30АЛФ	1,5±0,11 (14±3,0)	2,6±0,29* (-34±7,1•)	9,2±0,78* (+48±6,2•)
30ДМ+АЛФ	1,7±0,16* (+34±8,9•*)	2,7±0,37* (-44±8,9•)	12,1±0,61* (+38±5,6•)
60ДМ	2,0±0,16* (+36±7,8•*)	1,6±0,39 (-58±3,1•*)	12,6±1,02* (+39±4,1•)
60АЛФ	1,4±0,09 (11±3,1)	3,1±0,34* (-29±6,1•)	9,6±0,98 (+45±6,7•)
60ДМ+АЛФ	1,8±0,14* (+45±7,9•*)	3,9±0,93* (-7±2,5*)	11,2±1,40* (+70±9,6•*)

\* – среднее значение параметра статистически значимо отличается от такового контроля ( $p < 0,05$ ); • – в круглых скобках указана статистически значимая разница показателя после выполнения утомляющей работы (УР) относительно исходного значения соответствующей группы (в %,  $p < 0,05$ ).

этом сравнимого с контролем уменьшения количества активируемых ДЕ мышцы после УР, типичная для крыс 60ДМ+АЛФ-группы, не свидетельствует о более высокой устойчивости мышцы к утомлению в сравнении с контролем, поскольку количество активируемых ДЕ уменьшалось в такой же степени, как и в контроле. В то же время, за счет некоторого увеличения плотности МВ в составе ДЕ наблюдалась меньшая степень снижения амплитуды и более выраженное удлинение М-ответов после УР в сравнении с контролем.

Во-вторых, меньшая степень ухудшения параметров М-ответа у крыс 60ДМ+АЛФ-группы в сравнении с 60ДМ-группой, для которой было характерно более выраженное снижение амплитуды М-ответов в сравнении с таковым в контроле, позволяет предположить, что введение АЛФ в комплексе с ДМ несколько ослабило повышенную утомляемость мышцы, характерную для изолированного применения ДМ. При этом АЛФ, вводимый изолированно, не привел к повышению устойчивости мышцы к утомлению, о чем свидетельствует аналогичный контролю характер изменения параметров М-ответа и количества активируемых ДЕ мышцы после УР относительно исходного уровня в обеих АЛФ-группах (табл. 2, 3). В то же время АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, ослабил повышенную утомляемость мышцы, типичную для длительного применения ДМ.

Вместе с тем, удлинение латентного периода М-ответа мышцы после выполнения УР, типичное для животных, получавших ДМ, независимо от применения АЛФ, и не характерное для контроля, свидетельствует в пользу большей утомляемости синапсов и возможно сниженной надежности синаптической передачи.

Учитывая, что длительный гиперкортицизм обуславливает развитие недостаточности кальцитриола в организме [16] и затруднение реализации его эффектов на ткани-мишени [17], а также факт улучшения под действием АЛФ функциональных возможностей СМ только при исходном дефиците кальцитриола, но при этом отсутствие значимых позитивных его эффектов в норме [42], становится отчасти понятной некоторая компенсация под действием АЛФ признаков повышенной утомляемости мышцы, имевшая место в условиях нашей модели эксперимента после 60 сут введения пары препаратов (ДМ+АЛФ).

Полученные факты указывают в пользу того, что введение АЛФ в комплексе с ДМ полностью не компенсирует миопатические изменения, вызванные ДМ, хотя, по-видимому, ускоряет развитие и эффективность коллатерального спраунга. Как следствие, амплитуда и длительность М-ответов у крыс 30ДМ+АЛФ-

группы увеличивались в сравнении с контролем, тогда как утомляемость, оцениваемая по степени изменения параметров М-ответа и количества активируемых ДЕ мышцы после выполнения УР, была сопоставима с таковой 30ДМ-группы. Вместе с тем, после 60 сут введения пары препаратов АЛФ отчасти компенсировал повышенную утомляемость мышцы, обусловленную ДМ.

Еще один интересный факт в ДМ- и ДМ+АЛФ-группах состоял в характере изменения частоты полифазных М-ответов после УР. Так, частота полифазных потенциалов у животных ДМ-групп после УР несколько уменьшалась относительно исходной, тогда как у крыс ДМ+АЛФ-групп полифазные М-ответы, встречавшиеся у части животных до УР, после УР не регистрировались вообще (табл. 1). Данный факт указывает в пользу разных причин полифазии М-ответов в ДМ- и ДМ+АЛФ-группах. В частности, в ДМ-группах основной причиной полифазии является недостаточность числа нормальных МВ в составе ДЕ для формирования полноценного М-ответа вследствие выраженных дистрофических изменений МВ. Соответственно после УР причина полифазии (недостаточное для формирования полноценного М-ответа количество МВ) сохраняется, но частота полифазных М-ответов, также как и их амплитуда, несколько уменьшаются. Это уменьшение частоты полифазных М-ответов после УР, очевидно, обусловлено выключением части патологически измененных МВ из возбуждения после утомления, которое предопределяло, как минимум, две особенности изменения характера М-ответов после УР. Во-первых, уменьшение количества фаз в М-ответе после УР и соответственно его превращение из полифазного в нормальный и даже иногда в монофазный. Во-вторых, гораздо более выраженное уменьшение амплитуды М-ответа после УР в сравнении с контролем, поскольку часть МВ, участвовавших в формировании М-ответа до УР, переставала участвовать в нем после УР.

При комплексном применении ДМ+АЛФ полифазные М-ответы характеризовались существенно повышенной амплитудой ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контролем (табл. 1). Данный факт, как обсуждалось ранее, косвенно указывает в пользу того, что основной причиной полифазии в ДМ+АЛФ-группе могли быть как десинхронизация возбуждения МВ, так и существенное изменение скорости проведения по патологически измененным нервным волокнам (в том числе дистальным внутримышечным их участкам). Но поскольку плотность ДЕ очевидно была повышена (в пользу чего свидетельствует увеличение амплитуды и удлине-

ние М-ответов), амплитуда исходных М-ответов, несмотря на полифазию, не только не снижалась, а даже превышала контрольные значения (табл. 1). После УР, очевидно, патологически измененные мышечные или нервные волокна выключаются из возбуждения, вследствие чего полифазия не регистрируется вовсе. Таким образом, основной причиной полифазии в ДМ+АЛФ-группах являлось уменьшение степени синхронизации возбуждения патологически измененных нервных или мышечных волокон, которые после УР выключались из возбуждения, что и обуславливало нормализацию полифазных М-ответов.

Подводя итог изложенному, необходимо заключить, что введение АЛФ в комплексе с ДМ частично, но не полностью, нивелировало негативные эффекты синтетического ГК на НМА. В пользу этого свидетельствуют отсутствие в ДМ+АЛФ-группах значимого относительно контроля уменьшения количества активируемых ДЕ и массы мышцы, хотя тенденция к уменьшению массы мышцы всё же имела место. Кроме того, у животных 60ДМ+АЛФ-группы наблюдалось отсутствие типичного для ДМ-групп и контроля уменьшения амплитуды М-ответов после УР, что косвенно свидетельствует в пользу способности АЛФ нивелировать повышенную утомляемость мышцы, вызванную введением ДМ.

В то же время, для животных ДМ+АЛФ-групп было характерно типичное для ДМ-групп и не характерное для контроля удлинение латентного периода М-ответа мышцы после выполнения УР. Данный факт указывает в пользу сохранности признаков повышенной утомляемости синапсов или сниженной надежности нервно-мышечной передачи при длительном введении ДМ, независимо от применения АЛФ.

Кроме того, спустя 30 сут введения пары препаратов имело место типичное для 30ДМ-группы более выраженное, в сравнении с контролем, уменьшение количества активируемых ДЕ после УР, отчетливая тенденция уменьшения массы мышцы, значимое относительно контроля удлинение М-ответов на фоне повышения их амплитуды и достаточно высокая встречаемость полифазных М-ответов повышенной амплитуды (у 50% особей). Все эти факты косвенно указывают в пользу того, что через 30 сут как изолированного, так и комплексного с АЛФ введения ДМ определенные миопатические и возможно нейрогенные нарушения в НМА возникали. Но при введении АЛФ очевидно выраженность дистрофических изменений МВ была менее выраженной, вследствие чего масса мышцы имела лишь тенденцию к снижению, а количество активируемых ДЕ значимо не отличалось

от контроля. Кроме того, у животных ДМ+АЛФ-групп, по всей видимости, быстрее развивался компенсаторный спраунтинг дистрофически измененных фрагментов МВ, что обуславливало увеличение плотности ДЕ и в связи с этим отсутствие уменьшения амплитуды М-ответа, типичное для 30ДМ-группы.

Учитывая полученные нами факты, относительную безопасность АЛФ [27], а также данные относительно дефицита витамина D в организме, нарушения его метаболизма и понижения чувствительности периферических тканей к кальцитриолу при длительной ГК-терапии [16, 17], можно рекомендовать АЛФ как одно из средств для ослабления выраженности не только гипокальциемии и остеопороза [19, 43], но и стероидной миопатии.

### Выводы

1. АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, предотвратил типичное для ДМ-групп уменьшение массы мышцы и количества активируемых ее ДЕ, но тенденция к уменьшению массы мышцы в случае введения животным пары препаратов всё же имела место.

2. Введение АЛФ в комплексе с ДМ предотвратило типичное для 30ДМ-группы удлинение латентного периода М-ответов и уменьшение их амплитуды и даже обусловило увеличение в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) амплитуды М-ответов (на 85–60% в 30ДМ+АЛФ- и 60ДМ+АЛФ-группах соответственно) и их длительности в 30ДМ+АЛФ-группе (на 60%) с сохранностью тенденции к удлинению М-ответов в 60ДМ+АЛФ-группе.

3. Частота полифазных М-ответов в 30ДМ+АЛФ-группе (50%) была сопоставима с таковой 30ДМ-группы (40%), после УР у животных ДМ-групп она несколько уменьшалась относительно исходной, тогда как у крыс ДМ+АЛФ-групп полифазные М-ответы после УР не регистрировались вообще. Данный факт указывает в пользу разных причин полифазии М-ответов в ДМ- и ДМ+АЛФ-группах: в ДМ-группах основной причиной полифазии является недостаточность нормальных МВ в составе ДЕ для формирования полноценного М-ответа, тогда как в ДМ+АЛФ-группах – уменьшение степени синхронизации возбуждения патологически измененных нервных или мышечных волокон.

4. Увеличение амплитуды и длительности М-ответа в 30ДМ+АЛФ-группе на фоне появления полифазных потенциалов (у 50% особей) может свидетельствовать не только о миогенном повреждении нервно-мышечного аппарата, в том числе, коллатеральном спраунтинге частично расщепленных некротическими очагами МВ, но и в пользу нейрогенного генеза расстройств при длительной ГК-терапии.

5. Через 30 сут введения пары препаратов (ДМ+АЛФ) характер изменения параметров М-ответа и количества активируемых ДЕ мышцы после УР был во многом аналогичен таковому 30ДМ-группы. Вместе с тем, после 60 сут введения пары препаратов (ДМ+АЛФ), отмечалась менее выраженная в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) степень уменьшения амплитуды М-ответов после УР на фоне более выраженного увеличения их длительности, но при этом сравнимого с контролем уменьшения количества активируемых ДЕ мышцы, что косвенно свидетельствует в пользу увеличения плотности ДЕ мышцы и способности АЛФ ослаблять повышенную ее утомляемость, вызванную введением ДМ.

6. Независимо от введения АЛФ у животных, получавших ДМ, имело место нетипичное для контроля удлинение латентного периода М-ответа мышцы после УР, свидетельствующее в пользу большей утомляемости синапсов и возможно сниженной надежности синаптической передачи.

### Литература

(п.п. 1; 2; 4; 5; 7; 8; 10; 18-23; 25; 27-29; 31; 33-37; 39; 42 см. References)

3. Комердус И.В., Будул Н.А. Чеканова А.В. Системное действие глюкокортикоидных препаратов: в помощь врачу общей практики (обзор литературы). *Российский медицинский журнал*. 2017; 1: 45-8.
6. Гехт Б.М. *Теоретическая и клиническая электромиография*. Л.: Наука, Ленинградское отделение; 1990.
9. Неретин В.Я., Котов С.В., Сапфинова В.А. *О генезе неврологических изменений при болезни Иценко-Кушинга и синдроме Кушинга*. В кн. *Вопросы эндокринологии: Республиканский сборник научных работ*. М.; 1983: 35-9.
11. Соболев В.И., Труш В.В. Влияние тироксина на проявление эффектов дексаметазона на параметры М-ответа скелетной мышцы белых крыс. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2013; 99(9): 1067-76.
12. Труш В.В., Соболев В.И. Модулирующее влияние адреналина на развитие стероидной миопатии у белых крыс, индуцированной длительным введением гидрокортизона. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2017; 61(4): 104-11. <https://doi.org/10.25557/IGPP.2017.4.8530>
13. Труш В.В., Соболев В.И. Модуляция таурином стероидной миопатии у белых крыс, индуцированной длительным введением дексаметазона. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2017; 7(2): 108-18.
14. Труш В.В., Соболев В.И., Попов М.Н. Оценка эффективности аргинина в компенсации стероидной миопатии у белых крыс, индуцированной длительным введением дексаметазона. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2018; 62(4): 120-9. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2018.04.120-129>
15. Труш В.В., Соболев В.И. Оценка эффективности  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола в компенсации электрофизиологиче-

ских проявлений стероидной миопатии в модельных экспериментах на животных. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2019; 63(3): 35-47.

16. Башкова И.Б., Мадянов И.В. Принципы ведения пациентов с глюкокортикоидным остеопорозом. *РМЖ*. 2018; 12(II): 99-102.
17. Шиманский И.О., Лісаковська О.О., Великий М.М. Молекулярно-клітинні механізми захисної дії вітаміну D3 при експериментальному преднізолон-індукованому остеопорозі. *Біль. Суглоби. Хребет*. 2017; 7(3): 93-101.
24. Лукьянова Е.М., Антипкин Ю.Г., Омельченко Л.И., Апуховская Л.И. *Витамин D и его роль в обеспечении здоровья детей и беременных*. Киев: Аврора-принт; 2005.
26. Крюкова И.В. Возможности альфакальцидола в профилактике и лечении различных форм остеопороза. *РМЖ*. 2016; 20: 1359-63.
30. Нуруллина Г.И. Пульс-терапия глюкокортикоидами и состояние углеводного обмена при ревматических заболеваниях. *Казанский медицинский журнал*. 2013; 94(6): 920-3.
32. Салухов В.В., Ковалевская Е.А., Курбанова В.В. Костные и внекостные эффекты витамина D, а также возможности медикаментозной коррекции его дефицита. *Медицинский совет*. 2018; 4: 90-9. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-4-90-99>.
38. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. А.Н. Миронова, Н.Д. Бунатян, ред. Москва: Минздрав РФ, ЗАО «Гриф и К»; 2012.
40. Агафонов Б.В., Лагутина Т.С., Деянова А.Ф. К механизму развития нервно-мышечных расстройств при болезни Иценко-Кушинга. *Проблемы эндокринологии*. 1982; 28(6): 22-6.
41. Скворцов И.А., Сепп Е.К., Авакян Г.Н. Электромиографическое изучение экспериментальных стероидных миопатий у кроликов. *Журн. эксперим. и клин. мед.* 1979; 57(3): 72-8.
43. Никитинская О.А., Добровольская О.В., Торопцова Н.В. Альфакальцидол в лечении больных остеопорозом в современной клинической практике. *РМЖ*. 2017; 7: 452-6.

### References

1. Ha Y., Lee K.H., Jung S. Glucocorticoid-induced diabetes mellitus in patients with systemic lupus erythematosus treated with high-dose glucocorticoid therapy. *Lupus*. 2011; 20(10): 1027-34. <https://doi.org/10.1177/0961203311402246>
2. Gardner D., Shoback D. *Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology*. 9th ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2011.
3. Komerdus I.V., Budul N.A., Chekanova A.V. Systemic effects of glucocorticoid medicines: a guide for the General practitioner (literature review). *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal*. 2017; 1: 45-8. (In Russian)
4. Schakman O., Gilson H., Thissen J.P. Mechanisms of glucocorticoid-induced myopathy. *J. Endocrinology*. 2008; 197(1): 1-10. <https://doi.org/10.1677/joe-07-0606>
5. David W.S., Roehr C.L., Leatherman J.W. EMG findings in acute myopathy with status asthmaticus, steroids and paralytics: clinical and electrophysiologic correlation. *Electroencephalography and Clin. Neurophysiol.* 1995; 97(4): S214. [https://doi.org/10.1016/0924-980X\(95\)93232-I](https://doi.org/10.1016/0924-980X(95)93232-I)
6. Geht B.M. *Theoretical and clinical electromyography. [Teoreticheskaya i klinicheskaya elektromiografiya]*. Leningrad: Nauka; 1990. (In Russian)
7. Mitsui T., Umaki Y., Nagasawa M., Akaike M., Ohtsuka S., Odomi M., et al. Motor neuron involvement in a patient with long-term corticosteroid administration. *Internal Medicine*. 2003; 42(9): 862-6. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.42.862>



8. Minetto M.A., Lanfranco F., Botter A., Motta G., Mengozzi G., Giordano R., et al. Do muscle fiber conduction slowing and decreased levels of circulating muscle proteins represent sensitive markers of steroid myopathy? A pilot study in Cushing's disease. *Eur J Endocr.* 2011; 164(6): 985-93. <https://doi.org/10.1530/EJE-10-1169>
9. Neretin V.Ya., Kotov S.V., Sapfirova V.A. *On the genesis of neurological changes. In Itsenko-Cushing's disease and Cushing's syndrome. Endocrinology issues: Republican digest of treatises. [In: Voprosy endokrinologii: Respublikanskiy sbornik nauchnykh rabot].* Moscow; 1983: 35-9. (In Russian)
10. Trush V.V., Sobolev V.I. Modulation of Dexamethasone-Induced Effects on the Rat Skeletal Muscles by Testosterone. *International Journal of Physiology and Pathophysiology.* 2013; 4(4): 285-95. <https://doi.org/10.1615/IntJPhysPathophys.v4.i4.20>
11. Sobolev V.I., Trush V.V. Influence of thyroxine on display of dexamethasone's effects on M-response's parameters of skeletal muscle of white rats. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova.* 2013; 99(9): 1067-76. (In Russian)
12. Trush V.V., Sobolev V.I. The modulatory effect of adrenaline on development of steroid myopathy induced by chronic administration of hydrocortisone in white rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya.* 2017; 61(4): 104-11. (in Russian) doi: 10.25557/IGPP.2017.4.8530
13. Trush V.V., Sobolev V.I. The modulation by taurine of the steroid myopathy at white rats induced by long application of dexamethasone. *Krymskiy zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny.* 2017; 7(2): 108-18. (in Russian)
14. Trush V.V., Sobolev V.I., Popov M.N. Evaluation of arginine efficacy in control of steroid myopathy induced by long-term dexamethasone treatment in white rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya.* 2018; 62(4): 120-9. (in Russian) doi: 10.25557/0031-2991.2018.04.120-129
15. Trush V.V., Sobolev V.I. Beta-2-adrenergic agonist formoterol efficiency evaluation in compensation of the electrophysiological manifestations of steroid myopathy in model experiments on the animals. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya.* 2019; 63(3): 35-47. (in Russian) doi: 10.25557/0031-2991.2019.03.35-47
16. Bashkova I.B., Madyanov I.V. Principles of management of patients with glucocorticoid osteoporosis. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal.* 2018; 12(II): 99-102. (in Russian)
17. Shimans'kij I.O., Lisakovs'ka O.O., Velikij M.M. Molecular cell mechanisms of the protective action of vitamin D3 in experimental prednisolone-induced osteoporosis. *Bil'. Suglobi. Hrebet.* 2017; 7(3): 93-101. (in Ukrainian)
18. Mazziotti G., Angeli A., Bilezikian J.P., Canalis E., Giustina A. Glucocorticoid-induced osteoporosis: an update. *Trends Endocrinol. Metab.* 2006; 17(4): 144-9. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2006.03.009>
19. Kinoshita Y., Masuoka K., Miyakoshi S., Taniguchi S., Takeuchi Y. Vitamin D insufficiency underlies unexpected hypocalcemia following high dose glucocorticoid therapy. *Bone.* 2008; 42(1): 226-8. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2007.09.042>
20. Bianco S.D.C., Peng J.-B., Takanaga H., Suzuki Yo, Crescenzi A., Kos C.H., et al. Marked disturbance of calcium homeostasis in mice with targeted disruption of the Trpv6 calcium channel gene. *J. Bone Miner. Res.* 2007; 22(2): 274-85. <https://doi.org/10.1359/jbmr.061110>
21. Hoenderop J.G.J., van Leeuwen J.P.T.M., van der Eerden B.C.J., Kersten F.F.J., van der Kemp A.W.C.M., Mérrillat A.-M., et al. Renal Ca<sup>2+</sup> wasting, hyperabsorption, and reduced bone thickness in mice lacking TRPV5. *J. Clin. Invest.* 2003; 112(12): 1906-14. <https://doi.org/10.1172/jci200319826>
22. Takahashi N., Udagawa N., Suda T. Vitamin D endocrine system and osteoclasts. *Bonekey Rep.* 2014; 3: 495. <https://doi.org/10.1038/bonekey.2014.17>
23. Zheng J.S., Parnell L.D., Smith C.E., Lee Y.C., Jamal-Allial A., Ma Y., et al. Circulating 25-Hydroxyvitamin D, IRS1 variant rs2943641, and insulin resistance: replication of a gene-nutrient interaction in 4 populations of different ancestries. *Clin. Chem.* 2014; 60(1): 186-96. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2013.215251>
24. Luk'yanova E.M., Antipkin Yu.G., Omel'chenko L.I., Apuhovskaya L.I. *Vitamin D and its role in the health of children and pregnant women. [Vitamin D i ego rol' v obespechenii zdorov'ya detey i beremennykh].* Kiev: Avrora-print; 2005. (in Russian)
25. Bikle D.D. Extraskelatal actions of vitamin D. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2016; 1376(1): 29-52. <https://doi.org/10.1111/nyas.13219>
26. Kryukova I.V. Alfacalcidol for the prevention and treatment of osteoporosis. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal.* 2016; 20: 1359-63. (In Russian)
27. Elattar S., Estaphan S., Mohamed E.A., Elzainy A., Naguib M. The protective effect of 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 and metformin on liver in type 2 diabetic rats. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2017; 173: 235-44. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.11.012>
28. Majak P., Rychlik B., Stelmach I. The effect of oral steroids with and without vitamin D on early efficacy of immunotherapy in asthmatic children. *Clin. Exp. Allergy.* 2009; 39(12): 1830-41. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2009.03357.x>
29. Vaidya A., Williams J.S. Vitamin D and insulin sensitivity: Can gene association and pharmacogenetic studies of the vitamin D receptor provide clarity? *Metabolism.* 2012; 61(6): 759-61. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2011.12.009>
30. Nurullina G.I. Glucocorticoid pulse therapy and carbohydrate metabolism in rheumatic diseases. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal.* 2013; 94(6): 920-3. (In Russian)
31. Gröber U., Holick M.F. Vitamin D – Die Heilkraft des Sonnenvitamins. *Zeitschrift für Orthomolekulare Medizin.* 2020; 18(02): 30-1. <https://doi.org/10.1055/a-1207-4076>
32. Salukhov V.V., Kovalevskaya E.A., Kurbanova V.V. Osteal and extraosteal effects of vitamin D and its opportunities of medication correction of its deficiency. *Meditsinskiy sovet.* 2018; 4: 90-9. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-4-90-99>. (In Russian)
33. Ceglia L. Vitamin D and its role in skeletal muscle. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2009; 12(6): 628-33. <https://doi.org/10.1097/mco.0b013e328331c707>
34. Akagawa M., Miyakoshi N., Kasukawa Y., Ono Y., Yuasa Y., Naga-hata I., et al. Effects of activated vitamin D, alfacalcidol, and low-intensity aerobic exercise on osteopenia and muscle atrophy in type 2 diabetes mellitus model rats. *PLoS One.* 2018; 13(10): e0204857. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204857>
35. Miyakoshi N., Sasaki H., Kasukawa Y., Kamo K., Shimada Y. Effects of a vitamin D analog, alfacalcidol, on bone and skeletal muscle in glucocorticoid-treated rats. *Biomed Res.* 2010; 31(6): 329-36. <https://doi.org/10.2220/biomedres.31.329>
36. Vervloet M. Clinical uses of 1-alpha-hydroxycholecalciferol. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2014; 12(2): 300-5. <https://doi.org/10.2174/1570161113119990132>
37. Testerink J., Degens H., Rittweger J., Shiraishi A., Jaspers R.T., de Haan A. Effects of alfacalcidol on the contractile properties of the gastrocnemius medialis muscle in adult and old rats. *J. Physiol. Pharmacol.* 2011; 62(1): 111-8.

38. *Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv].* A.N. Mironova, N.D. Bunatyan, eds. Moscow: Minzdrav RF, ZAO «Grif i K»; 2012. (In Russian)
39. Galea V., De Bruin H., Cavasin R., McComas A.J. The number and relative size of motor unites estimated by computer. *Muscle and Nerve*. 1991; 14(11): 1123-30. <https://doi.org/10.1002/mus.880141114>
40. Agafonov B.V., Lagutina T.S., Deyanova A.F. On the mechanism of development of neuromuscular disorders in Itsenko-Cushing's disease. *Problemy endokrinologii*. 1982; 28(6): 22-6. (In Russian)
41. Skvorcov I.A., Sepp E.K., Avakyan G.N. Electromyographic study of experimental steroid myopathies in rabbits. *Zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny*. 1979; 57(3): 72-8. (In Russian)
42. Stockton K.A., Mengersen K., Paratz J.D., Kandiah D., Bennell K.L. Effect of vitamin D supplementation on muscle strength: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporosis International*. 2011; 22: 859-71. <https://doi.org/10.1007/s00198-010-1407-y>
43. Nikitinskaya O.A., Dobrovolskaya O.V., Toroptsova N.V. Alfacalcidol in the treatment of patients with osteoporosis in modern clinical practice. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal*. 2017; 7: 452-6. (in Russian)

**Сведения об авторах:**

**Труш Вера Владимировна**, канд. мед. наук, доцент, зав. каф. физиологии человека и животных ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», e-mail: [ver.trush@yandex.ru](mailto:ver.trush@yandex.ru);

**Соболев Валерий Иванович**, доктор биол. наук, проф., каф. здоровья и реабилитации ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», e-mail: [v.sobolev@mail.ru](mailto:v.sobolev@mail.ru)

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-092.9

Осиков М.В.<sup>1</sup>, Симонян Е.В.<sup>1</sup>, Бакеева А.Е.<sup>1</sup>, Астахова Л.В.<sup>2</sup>

# Морфологические аспекты протекторного действия оригинальных ректальных суппозиторий с экстрактом куркумы при экспериментальной болезни Крона

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Минздрава России,

545092, Челябинск, Россия, ул. Воровского, д. 64;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Многопрофильный центр лазерной медицины»,

454018, Челябинск, пр. Победы, д. 287

**Введение.** Востребованным для лечения болезни Крона (БК) является разработка новых, обоснованных с патогенетических позиций и безопасных лекарственных средств преимущественно локального действия эндогенного или растительного происхождения. В этом отношении привлекает внимание экстракт корневищ Куркумы длинной (*Curcuma longa*), содержащий куркуминоидный комплекс, обладающий плейотропными эффектами. Ранее нами показано, что экстракт куркумы в составе суппозиторий при экспериментальной БК обладает иммуномодулирующим и местным антиоксидантным действием, что предполагает влияние экстракта куркумы на морфологию очага повреждения в кишечнике при БК.

**Цель работы** – изучение влияния экстракта куркумы в составе оригинальных ректальных суппозиторий на динамику морфологических изменений, экспрессию миелопероксидазы (МПО) и TNF-α в очаге повреждения толстого кишечника при экспериментальной БК.

**Методика.** Эксперимент выполнен на 49 половозрелых крысах-самцах Wistar. БК моделировали введением *per rectum* спиртового раствора тринитробензолсульфоновой кислоты (ТНБС). Оригинальные ректальные суппозитории массой 300 мг на основе полиэтиленгликолей различной молекулярной массы, содержащие 0,075 мг куркумина из экстракта корневищ *Curcuma longa* L., вводили *per rectum* каждые 12 ч в течение 7 сут. Клинический статус оценивали по модифицированной шкале Disease activity index (DAI). Морфометрически в стенке кишечника оценивали размер язвенного дефекта, выраженность клеточной инфильтрации, рассчитывали индекс тканевого повреждения (tissue damage index, TDI), оценивали экспрессию МПО и TNF-α.

**Результаты.** При экспериментальной БК на 3-и, 5-е и 7-е сут наблюдения в толстом кишечнике обнаруживались язвенные дефекты, выраженный отек тканей, плотная нейтрофильно-лимфоцитарная инфильтрация с примесью эозинофилов, плазмацитов, гистиоцитов, фибробластов, наблюдалось формирование грануляционной ткани. Индекс тканевого повреждения возрастал, повышалась экспрессия МПО и TNF-α. Размер язвенных дефектов, выраженность инфильтрации, индекс тканевого повреждения соответствовали клинической картине и индексу DAI. Применение оригинальных ректальных суппозиторий с экстрактом куркумы (0,075 мг) приводит к снижению выраженности клинических и морфологических признаков заболевания, максимальный эффект отмечен на 5-е и 7-е сут наблюдения.

**Заключение.** Установленные протекторные свойства куркумина в составе оригинальных ректальных суппозиторий при БК на доклиническом этапе расширяют современные представления о плейотропных эффектах экстракта куркумы и являются предпосылкой для проведения дальнейших исследований и внедрения новой лекарственной формы в клиническую практику.

**Ключевые слова:** болезнь Крона; кишечник; морфология; TNF-α; миелопероксидаза; экстракт куркумы; суппозитории

**Для цитирования:** Осиков М.В., Симонян Е.В., Бакеева А.Е., Астахова Л.В. Морфологические аспекты протекторного действия оригинальных ректальных суппозиторий с экстрактом куркумы при экспериментальной болезни Крона. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2021; 65(2): 67-77.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.67-77

**Для корреспонденции:** Осиков Михаил Владимирович, доктор мед. наук, проф., заведующий кафедрой патофизиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: prof.osikov@yandex.ru

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Осиков М.В., Симонян Е.В., Бакеева А.Е.; сбор и обработка материала – Бакеева А.Е., Астахова Л.В.; статистическая обработка – Бакеева А.Е., Астахова Л.В.; написание текста – Осиков М.В., Симонян Е.В., Бакеева А.Е.; редактирование – Бакеева А.Е., Астахова Л.В.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 30.04.2020

Принята к печати 25.03.2021

Опубликована 30.06.2021

Osikov M.V.<sup>1</sup>, [Simonyan E.V.](#)<sup>1</sup>, Bakeeva A.E.<sup>1</sup>, Astakhova L.V.<sup>2</sup>

## Morphological aspects of the protective effect of newly formulated rectal suppositories with turmeric extract in experimental Crohn's disease

<sup>1</sup>South Ural State Medical University,  
Vorovskogo St. 64, Chelyabinsk 545092, Russian Federation;

<sup>2</sup>Multidisciplinary Center of Laser Medicine,  
Prospekt Pobedy 287, Chelyabinsk 454018, Russian Federation

The development of safe, new, pathogenetically justified medicines, mainly with local effects and of endogenous or plant origin, is of great interest for treatment of Crohn's disease (CD). In this regard, an extract of rhizomes of *Curcuma longa*, containing a curcuminoid complex with pleiotropic effects, has attracted attention. We showed previously that having turmeric extract in suppositories for treatment of experimental CD would produce immunomodulatory and antioxidant effects. This suggests that turmeric extract affects the morphology of the CD intestinal lesion.

**The aim** of this work was to study the effect of turmeric extract in the composition of novel rectal suppositories on the morphology and expression of myeloperoxidase (MPO) and TNF- $\alpha$  in colon lesions of experimental CD.

**Methods.** Experiments were performed on 49 sexually mature male Wistar rats. CD was modeled by administration per rectum of an alcohol solution of trinitrobenzenesulfonic acid. The newly formulated rectal suppositories weighing 300 mg and based on polyethylene glycols of various molecular weights and containing 0.075 mg of curcumin obtained from *Curcuma longa* L. rhizome extract were administered per rectum every 12 hours for 7 days. The clinical status was assessed with the modified disease activity index (DAI) scale. The ulcer defect diameter, cell infiltration, tissue damage index (TDI), MPO expression, and TNF- $\alpha$  expression were evaluated.

**Results.** In experimental CD on the 3<sup>rd</sup>, 5<sup>th</sup>, and 7<sup>th</sup> days of observation, a morphometric assessment of the lesion in the large intestine revealed the presence of ulcerative defects, edema, thick neutrophilic lymphocytic infiltration with an admixture of eosinophils, plasmocytes, histiocytes, fibroblasts, the formation of granulation tissue, increased TDI, and increased expression of MPO and TNF- $\alpha$ . The size of ulcerative defects, the degree of wall infiltration by neutrophils, lymphocytes, plasmocytes, histiocytes, and fibroblasts were recorded. The TDI, the expression of MPO, and TNF- $\alpha$  were associated with the DAI. The use of the novel rectal suppositories produced a maximal effect on the 5<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> days of observation. The severity of clinical and morphological signs of the disease were reduced. These signs included ulcer size, TDI, intestinal wall infiltration with neutrophils, lymphocytes, eosinophils, plasmocytes, histiocytes, and fibroblasts, and expression of MPO and TNF- $\alpha$ .

**Conclusion.** The results supplement available data on the pathogenesis, the role of the expression of MPO and TNF- $\alpha$ , and the morphology of the lesion in the clinical status in TNBS-induced CD in rats. The demonstrated, protective properties of curcumin in the composition of the novel rectal suppositories at the preclinical stage of CD expand modern understanding of the pleiotropic effects of turmeric extract and are a prerequisite for further research and the introduction of a new dosage form in clinical practice.

**Keywords:** Crohn's disease; intestines; morphology; TNF- $\alpha$ ; myeloperoxidase; turmeric extract; suppositories

**For citation:** Osikov M.V., [Simonyan E.V.](#), Bakeeva A.E., Astakhova L.V. Morphological aspects of the protective effect of newly formulated rectal suppositories with turmeric extract in experimental Crohn's disease. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(2): 67-77. (in Russian)

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2021.02.67-77

**For correspondence:** **Mikhail V. Osikov**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head, Department of Pathophysiology, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation, e-mail: [prof.osikov@yandex.ru](mailto:prof.osikov@yandex.ru)

**Contribution:** study concept and design – Osikov M.V., [Simonyan E.V.](#), Bakeeva A.E.; collection and treatment of materials – Bakeeva A.E., Astakhova L.V.; statistics – Bakeeva A.E., Astakhova L.V.; text writing – Osikov M.V., [Simonyan E.V.](#), Bakeeva A.E.; editing – Bakeeva A.E., Astakhova L.V.

**Acknowledgment.** The study has no sponsorship.

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

### Information about the authors:

Osikov M.V., <https://orcid.org/0000-0001-6487-9083>

Bakeeva A.E., <https://orcid.org/0000-0002-9264-4852>

Received 30.04.2020

Accepted 25.03.2021

Published 30.06.2021

## Введение

Данные по заболеваемости болезнью Крона (БК) в мире варьируют в широких пределах, тем не менее позволяют уверенно говорить о росте. По данным систематических обзоров, в Европе (1930 – 2008 гг.) заболеваемость БК в среднем составляла 12,7 на 100 тыс. человеко-лет, в Северной Америке – 20,2 на 100 тыс. человеко-лет, в РФ распространенность БК составляет 5–20 случаев на 100 тыс. [1]. Особое значение имеет рост заболеваемости БК у молодых трудоспособных граждан в связи с высокой вероятностью развития осложнений. По данным различных исследований не менее 30% пациентов с БК рефрактерны к базисной терапии, у многих возникает широкий спектр побочных явлений, ограничивающих применение препаратов [2]. В связи с этим, востребованной является разработка новых, патогенетически обоснованных, безопасных лекарственных средств локального действия эндогенного или растительного происхождения. В этом отношении привлекает внимание экстракт корневищ Куркумы длинной (*Curcuma longa*), содержащий куркуминоидный комплекс, плейотропные эффекты которого, включая антиоксидантные, цитопротекторные, антиапоптогенные, противовоспалительные, иммуномодулирующие, антимикробные и др., были продемонстрированы в клинических и экспериментальных условиях при хронических воспалительных заболеваниях. Препараты куркуминоидного комплекса показали свою эффективность при заболеваниях аутоиммунной природы, что предполагает возможность его успешного применения при БК [3, 4].

В РФ отсутствуют зарегистрированные лекарственные формы, содержащие куркумин, что существенно ограничивает возможности его изучения и применения в терапии БК. Ранее нами показано, что экстракт куркумы в составе оригинальных ректальных суппозиториев при экспериментальной БК обладает системным иммуномодулирующим, а также антиоксидантным действием в стенке толстого кишечника, уменьшает содержание продуктов перекисидации липидов и окислительной модификации белков [5–7]. Данный факт позволяет предполагать положительное местное действие экстракта куркумы на очаг повреждения в кишечнике при БК. Есть предположение, что экспрессия в стенке толстого кишечника миелопероксидазы (МПО) и TNF- $\alpha$ , участвующих в инициации и поддержании иммунопатологических реакций и воспалительного процесса в толстом кишечнике, являются ключевыми маркерами БК, определяют вероятность и длительность ремиссии, коррелируют с дру-

гими лабораторными показателями (С-реактивный белок, кальпротектин), индексами клинической активности заболевания и могут применяться для оценки эффективности проводимой терапии [8–10]. Цель работы – исследование влияния экстракта куркумы в составе оригинальных ректальных суппозиториев на экспрессию МПО и TNF- $\alpha$  и морфологию очага повреждения толстого кишечника при экспериментальной болезни Крона.

## Методика

Эксперимент выполнен на 49 крысах-самцах Wistar массой 240–260 г. в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123 от 18.03.1986 г., Страсбург), рекомендациями Европейской Комиссии 2007/526/ЕС от 18.06.2007 г., и Директивой 2010/63/EU европейского парламента и совета Европейского союза от 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протоколы № 1 от 14.01.2017 г., № 1 от 22.01.2020 г.).

Животные были случайным образом разделены на группы: 1-я группа ( $n=7$ ) – интактный контроль; 2-я ( $n=21$ ) – животные с БК; 3-я ( $n=21$ ) – животные с БК в условиях применения ректальных суппозиториев с экстрактом куркумы через каждые 12 ч. Животные были лишены корма за 24 ч до начала исследования. Для общей анестезии использовали препарат «Золетил-100» («Zoletil», «Virbac SanteAnimale», Франция) в дозе 20 мг/кг. Для моделирования БК 30 мг тринитробензолсульфоновой кислоты (ТНБС) («Sigma-aldrich», США) растворяли в 150 мл 50% этанола, затем 0,25 мл полученного раствора вводили *per rectum* с помощью полиуретанового катетера с диаметром 2 мм на глубину 8 см [11]. Доза ТНБС была подобрана таким образом, чтобы смертность животных была минимальной или отсутствовала. В наших экспериментах смертность животных в течение 7 сут моделирования БК отсутствовала. Развитие БК верифицировали по клинической картине и морфологии очага повреждения в толстом кишечнике.

Нами разработан состав и проведен комплекс фармакотехнологических исследований новой лекарственной формы – суппозиториев, содержащих 0,075 мг куркумина, полученного из 10% спиртового (растворитель – спирт этиловый 80%) экстракта корневищ с корнями куркумы длинной (*Curcuma longa L.*, «Diamart», Индия). В качестве вспомогательных веществ, для ответственности фармацевтико-технологическим и био-

фармацевтическим параметрам, использовали полиэтиленгликоли различной молекулярной массы, эмульгатор Т-2, кремифор СО-40 и Kolliphor P188. Выбор оптимальной композиции базировался на исследовании кинетики высвобождения куркумина в тесте «Растворение», динамика высвобождения куркумина из суппозитория носила линейный характер с величиной аппроксимации 0,995. Стандартизацию суппозитория проводили согласно ОФС 1.4.1.0013.15 «Суппозитории». Размеры суппозитория были адаптированы под анатомические особенности лабораторных животных, масса каждого образца исследуемой лекарственной формы составила 300 мг. Исследования проводили на 3-и, 5-е и 7-е сут моделирования БК.

Во всех группах животных ежедневно оценивали потребление корма и воды, а также клинический статус по модифицированной шкале Disease activity index (DAI), адаптированной для оценки БК у крыс и включающей 3 параметра: массу тела, консистенцию стула и наличие крови в кале [12]. Каждый критерий оценивали по 4-х-балльной шкале от 0 до 4, затем баллы суммировали, минимальное значение индекса – 0, максимальное – 12.

Проксимальную часть ободочной кишки фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина, серийные гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Подсчитывали под микроскопом («Leica DMRXA», Германия) на 1 мм<sup>2</sup> количество нейтрофилов, эозинофилов, лимфоцитов, гистиоцитов, плазматических клеток, фибробластов, измеряли диаметр язвенного дефекта (в мкм) при увеличении 400 и 100 в 10 случайно выбранных полях зрения. Морфометрические исследования проводили с помощью программы «ImageScore M» (Россия). Для интегральной оценки повреждения толстого кишечника использовали индекс повреждения тканей (tissue damage index, TDI), для чего по шкале от 0 до 6 оценивали уровень лейкоцитарной инфильтрации, плотность сосудистого русла, степень утолщения стенки кишечника, сни-

жение числа бокаловидных клеток [13], определяли относительную площадь повреждения.

Иммуногистохимическим методом оценивали экспрессию МПО и TNF-α в толстом кишечнике с использованием наборов специфических для крыс антител («ElisaKit», Китай) и высокоадгезивных стекол с положительно заряженной поверхностью (Super Frost Plus), результат выражали в ед./мм<sup>2</sup>. Постановка реакции проводилась в иммуногистостейнере «Bench Mark XT» (Ventana, США) с соблюдением протокола исследования. Для визуализации применяли систему «Ultra VIEW Universal DAB» (Ventana, США) и комплекс вторичных антител и хромогена.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics 19. Характеристика выборок представлена в формате «Me (Q<sub>25</sub> – Q<sub>75</sub>)», где Me – медиана, Q<sub>25</sub>, Q<sub>75</sub> – значение нижнего и верхнего квартиля соответственно. Проверку статистических гипотез в группах проводили с использованием непараметрических критериев (Краскелла–Уоллиса, Манна–Уитни, Вальда–Вольфовитца, Колмогорова–Смирнова). Для выявления связи между изучаемыми параметрами использовали коэффициент корреляции Спирмена – R. Различия считали статистически значимыми при p < 0,01.

**Результаты**

При экспериментальной БК, начиная с 3-х сут наблюдения, у животных возрастала частота дефекаций, изменялась консистенция кала, отмечалось появление крови в каловых массах, на 5-е и 7-е сут наблюдения к указанным признакам присоединялось снижение массы тела и нарастание тяжести симптоматики, что нашло отражение в статистически значимом увеличении индекса DAI (табл. 1). Потеря массы тела в среднем составила 10%, принято считать, что это обусловлено диареей, системным воспалительным ответом и анорексигенным эффектом некоторых провоспалительных цитокинов, в частности TNF-α [14]. Кроме

Таблица 1

**Влияние экстракта куркумы в составе ректальных суппозиториях на индекс активности болезни при экспериментальной БК (Me (Q<sub>25</sub>-Q<sub>75</sub>))**

Группы животных	Группа 1-я (n=7) контроль	Группа 2-я 3-и сут (n=7)	Группа 2-я 5-е сут (n=7)	Группа 2-я 7-е сут (n=7)	Группа 3-я 3-и сут (n=7)	Группа 3-я 5-е сут (n=7)	Группа 3-я 7-е сут (n=7)
DAI, у.е.	0	7,00 (3,00-7,00)*	8,00 (6,00-10,00)*	11,00 (11,00-11,00)*	5,00 (5,00-5,00)*	4,00 (4,00-5,00)* #	4,00 (4,00-4,00)*#

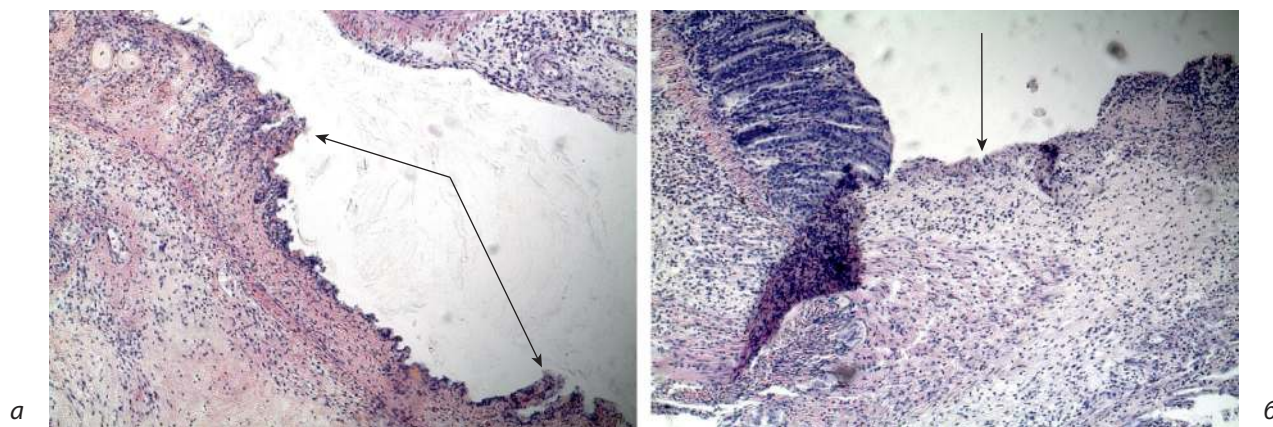
Примечание. \* – значимые (p<0,01) различия с группой 1-й, # - с группой 2-й.

этого, отмечалось снижение двигательной активности животных. В динамике БК значение DAI на 7-е сут статистически значимо превышало значения 3-х и 5-х сут ( $p < 0,05$ ). Таким образом, при ТНБС-индуцированном колите у крыс наблюдается клиническая картина, характерная для БК.

На 3-и сут БК при гистологическом исследовании фрагментов толстой кишки определялись язвенные дефекты, дно которых располагалось в слизистой оболочке (рис. 1, а) или в подслизистом слое. Собственная пластинка слизистой оболочки и подслизистый слой разрыхлены, утолщены за счет отека и клеточной инфильтрации, которая состояла преимущественно из лимфоцитов и нейтрофилов с примесью эозинофилов. В подслизистом слое наблюдался отек межучной ткани, венозное и капиллярное полнокровие с картиной эритростаза. На 5-е сут БК определялись язвенные дефекты, выполненные клеточным детритом в виде мелкозернистых бесструктурных масс, их дно располагалось в подслизистом или в мышечном слое. Непрерывность собственной пластинки слизистой оболочки в проекции язвенных дефектов была нарушена, волокна ее разрыхлены, раздвинуты экссудатом, в котором определялись преимущественно лимфоциты и нейтрофилы. В подслизистом слое – отек межучной ткани, выраженное венозное и капиллярное полнокровие с картиной эритро- и лейкостазов, плазматическое пропитывание и фибриноидное набухание сосудистых стенок. В подслизистом слое в стенках язвенных дефектов наблюдались начальные явления фибриллогенеза: участки пролиферации фибробластов на фоне мелкоочаговой лимфогистиоцитарной инфильтрации с при-

месью небольшого количества плазматических клеток и формирование тонких, коротких соединительнотканых волокон (рис. 2, а). На 7-е сут БК определялись язвенные дефекты, в том числе выполненные клеточным детритом в виде базофильных мелкозернистых бесструктурных масс. Дно дефектов располагалось глубоко в подслизистом слое с нарушением непрерывности собственной пластинки слизистой оболочки. В клеточном составе грануляционной ткани на фоне лимфогистиоцитарной инфильтрации были видны поля веретеновидных фибробластов. В перифокальных зонах определялся отек и дистрофические изменения слизистой оболочки, просветы кишечных желез были расширены, крипты укорочены, просветленная цитоплазма клеток эпителия была вакуолизирована, ядра набухшие, гипохромные, прослойки рыхлой соединительной ткани между криптами с выраженной нейтрофильно-лимфоцитарной инфильтрацией (рис. 3, а).

Морфометрический анализ позволил установить, что на 3-и и 5-е и 7-е сут экспериментальной БК в очаге повреждения толстого кишечника на единице площади увеличивалось количество лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, плазмочитов, гистиоцитов, фибробластов, определялись язвенные дефекты диаметром в среднем 0,6 мм на 3-и сут, 1 мм – на 5-е сут, 0,5 мм – на 7-е сут (табл. 2). В динамике БК в очаге повреждения количество лимфоцитов на 5-е сут было выше, чем на 3-и сут наблюдения, а на 7-е – выше, чем на 3-и и 5-е сут, количество нейтрофилов на 7-е сут было ниже, чем на 3-и и 5-е сут, количество эозинофилов на 5-е и 7-е сут было меньше, чем на 3-и сут, количество гистиоцитов, плазмочитов и фи-

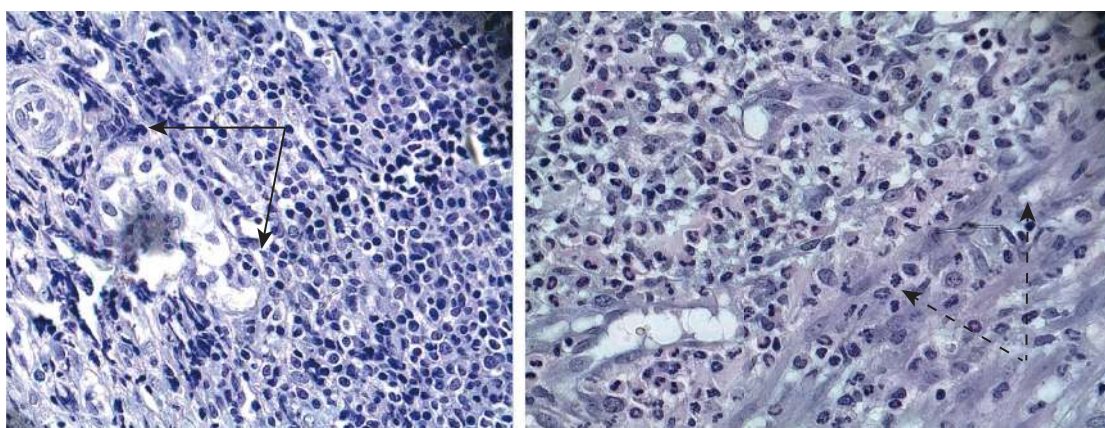


**Рис. 1.** Морфологические изменения в очаге повреждения толстого кишечника на 3-и сут БК: а – без лечения – язвенный дефект (стрелки) в пределах слизистой оболочки толстой кишки (окраска гематоксилин-эозин, ув. 100); б – при применении экстракта куркумы – язвенный дефект (стрелка) с нарушением целостности собственной пластинки, распространяющийся в подслизистый слой (окраска гематоксилин-эозин, ув. 100).

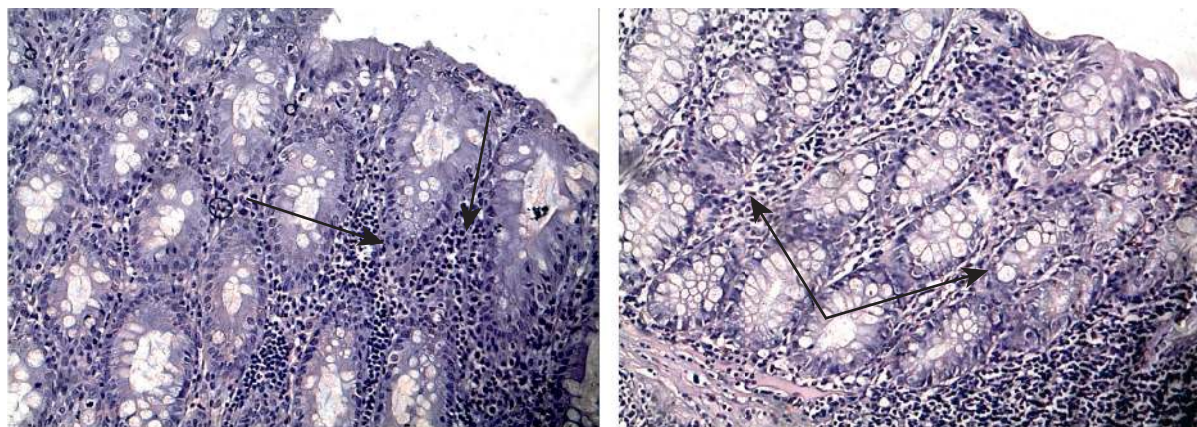
бробластов последовательно увеличивалось с 3-х к 7-м сут. Диаметр язвенного дефекта на 5-е сут был выше, чем на 3-и, а на 7-е сут меньше, чем на 3-и и 5-е сут. Как видно, максимальные изменения морфометрических показателей зафиксированы на 5-е и 7-е сут наблюдения – от 3-х к 7-м сут наблюдения в очаге повреждения прогрессивно увеличивалось количество лимфоцитов, нейтрофилов, гистиоцитов, плазмацитов и фибробластов. Для интегральной оценки микроскопических изменений в очаге повреждения толстого кишечника использовали индекс повреждения тканей (TDI). В динамике экспериментальной БК на 3-и, 5-е и 7-е сут значения TDI колебались у крыс от 3 до 4, без значимых изменений на 5-е сут по сравнению с

3-ми сут и на 7-е сут по сравнению с 3-ми и 5-ми сут наблюдений. На 3-и, 5е и 7-е сут в стенке толстого кишечника значительно повышается экспрессия МПО. В динамике экспериментальной БК экспрессия МПО на 7-е сут значимо ( $p < 0,05$ ) ниже, чем на 3-и и 5-е сут. Наряду с этим, повышается экспрессия TNF- $\alpha$  на 3-и, 5-е и 7-е сутки наблюдения. В динамике экспериментальной БК экспрессия TNF- $\alpha$  была на 7-е сут значимо ( $p < 0,05$ ) ниже, чем на 3-и и 5-е сут. Как видно, максимальная экспрессия МПО и TNF- $\alpha$  в толстом кишечнике при экспериментальной БК фиксируется на 3-и и 5-е сут эксперимента.

В условиях локального применения экстракта куркумы у животных с БК зафиксированы измене-



**Рис. 2.** Морфологические изменения в очаге повреждения толстого кишечника на 5-е сут БК: а – без лечения – густая нейтрофильно-лимфоцитарная инфильтрация (стрелки) в подслизистом слое язвенного дефекта (окраска гематоксилин-эозин, ув. 400); б – при применении экстракта куркумы – очаговая нейтрофильно-лимфоцитарная инфильтрация в подслизистом слое, участки макрофагальной инфильтрации и тяжи пролиферирующих фибробластов (пунктирные стрелки), начальные явления неоваскуляризации (окраска гематоксилин-эозин, ув. 400).



**Рис. 3.** Морфология очага повреждения на 7-е сут БК: а – без лечения – нейтрофильно-лимфоцитарная инфильтрация интерстициальных пространств (стрелки) между укороченными криптами слизистой оболочки рядом с язвенными дефектами (окраска гематоксилин-эозин, ув. 200); б – при применении экстракта куркумы – очаговая нейтрофильно-лимфоцитарная инфильтрация интерстициальных пространств (стрелки) между криптами (окраска гематоксилин-эозин, ув. 200).



ния клинической картины: увеличилось потребление корма, повысилась двигательная активность крыс в клетках, животные больше времени уделяли грумингу. С 3-х сут наблюдения был отмечен более оформленный стул и отсутствие признаков кишечного кровотечения в виде крови в каловых массах и окрашивания ануса. Указанные симптомы нашли отражение в интегральном показателе оценки клинического статуса DAI: на 3-и сут эксперимента показатель при тенденции к снижению статистически значимо не отличался от значений в контрольной группе, на 5-е и 7-е сут — значимо снижался. Несмотря на снижение значения DAI, на 5-е и 7-е сут эти показатели существенно отличались от значений в группе интактных животных, что позволяет говорить, что на данных сроках наблюдения имеет место частичное восстановление DAI на фоне применения при БК ректальных суппозиториях с экстрактом куркумы. В динамике экспериментальной БК значения DAI на 5-е сут значимо не отличаются от значений на 3-и сут а на 7-е сут — от значений на 3-и и 5-е сут соответственно ( $p > 0,05$ ).

При оценке морфологических изменений в стенке толстого кишечника при экспериментальной БК на фоне применения ректальных суппозиториях с экстрактом куркумы на 3-и сут наблюдения в исследованных фрагментах толстой кишки наблюдались язвенные дефекты, дно которых располагалось в пределах собственной пластинки слизистой оболочки или в подслизистом слое (рис. 1, б), а стенки были представлены отечной слизистой оболочкой. Во всех полях зрения наблюдались явления дисплазии в виде псевдополипов с нейтрофильно-лимфоцитарной инфильтрацией стромы, покрытых неизменной слизистой оболочкой.

На 5-е сут выявлялось умеренное количество юных веретеновидных фибробластов. Новообразованные сосуды микроциркуляторного русла имели дифференцированные стенки и эндотелиальную выстилку. Новообразованные соединительно-тканые волокна выявлялись в умеренном количестве, были тонкими, извитыми и располагались параллельно поверхности слизистой оболочки. Стенки эрозий представлены слизистой оболочкой обычного гистологического строения, дно эпителизировано за счет пролиферации поверхностного столбчатого эпителия. В перифокальных зонах в подслизистом слое наблюдался умеренный отек межучной ткани и полнокровие сосудов. Стенки язвенных дефектов были представлены дистрофически измененной слизистой оболочкой с укороченными криптами, их просветы расширены, эпителий вакуолизирован, частично слу-

щен в просветы крипт. Непрерывность собственной пластинки слизистой оболочки в проекции язвенных дефектов была местами нарушена, волокна ее разрыхлены, раздвинуты экссудатом, состоящим преимущественно из лимфоцитов и гистиоцитов с примесью умеренного количества нейтрофилов и эозинофилов (рис. 2, б).

На 7-е сут БК наблюдались процессы полной эпителизации дефектов, отмечалось небольшое снижение высоты слизистой оболочки с нарушением рисунка строения: крипты укорочены, просветы их расширены. Отмечалась резкая дисконфлексация крипт за счет густой нейтрофильно-лимфоцитарной инфильтрации интерстициальных пространств, а также сохранение белковой листрофии эпителия крипт с частичной десквамацией клеток в просветы (рис. 3, б).

Результаты морфометрии очага повреждения толстого кишечника при экспериментальной БК на фоне применения ректальных суппозиториях с экстрактом куркумы представлены в табл. 2. Инфильтрация очага повреждения толстого кишечника клеточными элементами изменялась неоднозначно в динамике экспериментальной БК. Содержание лимфоцитов значимо уменьшалось на 5-е сут. Количество нейтрофилов было ниже, чем в группе без лечения на всех сроках наблюдения, а количество эозинофилов значимо уменьшалось только на 3-и сут, на 5-е и 7-е сут — только в виде тенденции. Установлено, что содержание гистиоцитов увеличивалось на 3-и сут, уменьшалось — на 7-е сут эксперимента, число плазмочитов — увеличивалось на 3-и сут, уменьшалось — на 5-е и 7-е сут, количество фибробластов — увеличивалось на 3-и сут. На этом фоне размер язвенного дефекта сокращался на 3-и, 5-е и 7-е сут эксперимента. Изменения морфометрических показателей нашли отражение в индексе TDI — он снижался на 5-е и 7-е сут наблюдения. В динамике экспериментальной БК количество нейтрофилов в очаге повреждения на 5-е сут снижалось по сравнению с 3-ми сут, а на 7-е сут — увеличивалось по сравнению с 5-ми сут; размер язвенного дефекта на 7-е сут значимо уменьшался по сравнению с 3-ми сут наблюдения. Отметим, что все исследуемые морфометрические показатели не достигали значений, наблюдаемых в группе интактных животных на всех сроках наблюдения, то есть восстановление было частичным. Особый интерес представляют данные по экспрессии TNF- $\alpha$  и МПО в очаге повреждения толстого кишечника при БК на фоне локального применения экстракта куркумы (табл. 2). На 3-и сут экспрессия TNF- $\alpha$  и МПО значимо не отличается от соответствующих показателей в контрольной группе животных с БК без лечения и сохраняется повышенной

по сравнению с группой интактных животных. На 5-е и 7-е сут наблюдения экспрессия TNF-α и МПО снижается, но сохраняется повышенной по сравнению с группой интактных животных. Полученные данные позволяют говорить о частичном восстановлении экспрессии TNF-α и МПО в очаге повреждения толстого кишечника на 5-е и 7-е сут экспериментальной БК в условиях применения ректальных суппозиториев с экстрактом куркумы.

**Обсуждение**

Наблюдаемая нами и другими исследователями клинико-морфологическая картина ТНБС-индуцируемого колита у крыс соответствует изме-

нениям при БК, что позволяет использовать представленную экспериментальную модель для изучения патогенеза и апробации новых терапевтических подходов. Типичная клиническая и морфологическая картина БК наблюдается уже через 48 ч после ректального введения ТНБС. Предполагается, что ТНБС выступает в роли гаптена и индуцирует в стенке толстого кишечника после повторного воздействия Th1-зависимый иммунный ответ против гаптен-модифицированных аутологических белков (или микробных белков кишечной микробиоты). Участие в реакции различных провоспалительных цитокинов и медиаторов приводит к трансмуральной инфильтрации стенки кишки лейкоцитами и развитию воспаления

Таблица 2

**Влияние экстракта куркумы в составе ректальных суппозиториев на морфометрические показатели в очаге повреждения толстого кишечника при экспериментальной БК [Me (Q<sub>25</sub>-Q<sub>75</sub>)]**

Показатели	Группа 1-я (n=7)	Группа 2-я 3-и сут (n=7)	Группа 2-я 5-е сут (n=7)	Группа 2-я 7-е сут (n=7)	Группа 3-я 3-и сут (n=7)	Группа 3-я 5-е сут (n=7)	Группа 3-я 7-е сут (n=7)
ЛЦ, ед./мм <sup>2</sup>	350,82 (305,13-368,95)	1485,14 (1295,33-2045,72) *	2138,36 (1312,33-2615,19) *	2961,81 (1867,99-3841,38) *	1652,86 (1562,06-2349,32) *	730,59 (443,34-890,68) * #	2883,89 (1626,01-3423,42) *
НФ, ед./мм <sup>2</sup>	196,93 (189,70-214,76)	2888,08 (1608,91-2979,27) *	2736,47 (2111,81-3465,34) *	2584,78 (2366,12-2770,78) *	862,06 (793,65-1210,76) * #	431,56 (246,30-607,28) * #	1273,41 (691,05-1441,44) * #
ЭФ, ед./мм <sup>2</sup>	145,63 (120,80-176,15)	1511,33 (1295-1808,78) *	636,13 (373,59-1113,86) *	765,09 (370,82-997,51) *	303,03 (206,89-1345,29) * #	523,08 (98,52--874,70) *	630,63 (565,21--721,64) *
ГЦ, ед./мм <sup>2</sup>	13,43 (13,40-13,64)	115,20 (103,47-131,25) *	1048,07 (880,51-1242,23) *	1461,63 (748,13-1867,99) *	1489,36 (1364,93-1565,65) * #	863,39 (689,65-992,90) *	853,65 (790,37-1198,51) * #
ПЦ, ед./мм <sup>2</sup>	14,51 (14,35-15,01)	126,90 (123,76-129,53) *	899,32 (524,93-1120,79) *	1007,55 (748,13-1982,65) *	672,64 (557,11-957,44) * #	281,03 (195,12-330,96) * #	412,37 (406,51-450,45) * #
ФБ, ед./мм <sup>2</sup>	20,06 (13,55-26,80)	337,37 (258,39-481,34) *	1369,03 (890,58-1706,03) *	1259,44 (991,32-2864,25) *	2730,15 (2172,41-3400,67) * #	977,66 (772,78-1139,68) *	1747,96 (1351,35-1821,31) *
Язвенный дефект, мкм	0	615,00 (288,00-680,50) *	936,00 (815,50--991,50) *	453,00 (349,00--702,50) *	228,50 (172,00--302,00) * #	240,00 (161,00--678,00) * #	244,00 (198,00--364,00) * #
TDI, у.е.	0	3,00 (3,00 – 4,00) *	3,57 (3,00 – 4,00) *	3,42 (3,00 – 4,00) *	3,71 (3,00-4,00) *	2,57 (1,00-3,00) * #	2,42 (1,00-3,00) * #
МПО, ед./мм <sup>2</sup>	19,15 (19,00-19,15)	1235,63 (670,49-1590,03) *	1187,73 (814,17-1561,31) *	766,28 (670,49-881,22) *	1070,88 (141,76-1616,85) *	220,31 (134,09-306,51) * #	254,41 (187,35-378,92) * #
TNF-α, ед./мм <sup>2</sup>	57,47 (38,31-76,62)	756,71 (632,18-842,91) *	795,19 (593,86-1072,79) *	392,72 (306,51-670,49) *	689,65 (335,24-862,06) *	344,82 (249,04-440,61) * #	244,82 (187,35-355,55) * #

**Примечание.** \* – значимые (p<0,01) различия с группой 1, # – с группой 2; ЛЦ – лимфоциты, НФ – нейтрофилы, ЭФ – эозинофилы, ГЦ – гистиоциты, ФБ – фибробласты, ПЦ – плазмоциты.

[14, 15]. Используемый в качестве растворителя для ТНБС 50% раствор этилового спирта вызывает дополнительное повреждение слизистой оболочки толстого кишечника.

Улучшение клинической картины (снижение выраженности симптомов, уменьшение индекса DAI) при экспериментальной БК в условиях применения ректальных суппозиторий с экстрактом куркумы соответствует изменениям морфологии в очаге повреждения: уменьшается инфильтрация нейтрофилами с 3-х к 7-м сут, эозинофилами на 3-и сут, лимфоцитами на 5-е сут, гистиоцитами – на 7-е сут, плазмócитами – на 5-е и 7-е сут. С 3-х сут увеличивается представительство плазмócитов, гистиоцитов и фибробластов, планомерно снижается размер язвенного дефекта с 3-х к 7-м сут, индекс TDI уменьшается на 5-е и 7-е сут наблюдения. Можно выделить несколько механизмов протекторного действия экстракта куркумы при БК. Во-первых, локальный антиоксидантный эффект за счет химической структуры (фенольные О-Н и С-Н группы), когда куркумин выступает в роли скавенджера свободных радикалов и антиоксидантного агента, ингибирует активность iNOS, поглощает NO, снижает экспрессию МПО в тканях за счет уменьшения инфильтрации нейтрофилами, угнетения их миграционной способности, дегрануляции [3, 16]. Во-вторых, прямой иммуноотропный эффект куркумина обусловлен регуляцией сигнальных путей: продукции провоспалительных цитокинов, реактантов острой фазы, ЦОГ-2 и др. за счет блокады

MyD88-зависимых механизмов, снижения активности NF- $\kappa$ B, MAPK, ERK1/2, JNK и p38, а также угнетения созревания дендритных клеток, повышения их толерогенного потенциала, снижения активности Th1, Th17 [4]. Наконец, куркумин обладает антимикробным эффектом, регулирует состав кишечной микробиоты в целом, увеличивает продукцию бактериями короткоцепочечных жирных кислот, обеспечивая защиту энтероцитов [17, 18]. Сам куркумин подвергается влиянию ферментов бактерий, образуя фармакологически более активные метаболиты [19]. Полагаем, что увеличение количества в очаге повреждения на 3-и сут плазмócитов, гистиоцитов и фибробластов отражает активацию репаративных процессов после первичной и вторичной альтерации стенки кишечника, что может быть обусловлено как меньшей по силе и продолжительности вторичной альтерации в очаге повреждения толстого кишечника с участием ферментов, АФК и азота, цитокинов и др. факторов, так и активацией миграции, пролиферации и дифференцировки клеток рост-стимулирующими сигналами из очага повреждения в стенке кишечника и/или поступающими из кровотока. Нами при БК, а также при БК в условиях применения экстракта куркумы проведен корреляционный анализ между индексом активности болезни (DAI) и морфометрическими показателями—индексом повреждения ткани (TDI), экспрессией TNF- $\alpha$  и МПО в очаге повреждения толстого кишечника. Результаты представлены в табл. 3. Максимальное количество положительных, средней

Таблица 3

#### Корреляция при БК между индексом активности болезни (DAI, у.е.) и морфометрическими показателями

Показатели	Группа 2-я 3-и сут	Группа 2-я 5-е сут	Группа 2-я 7-е сут	Группа 3-я 3-и сут	Группа 3-я 5-е сут	Группа 3-я 7-е сут
ЛЦ, ед./мм <sup>2</sup>	R=0,45	R=0,28	<b>R=0,43</b>	R=0,32	R=0,21	<b>R=0,49</b>
НФ, ед./мм <sup>2</sup>	<b>R=0,51</b>	<b>R=0,57</b>	R=0,32	R=0,19	R=0,23	R=0,16
ЭФ, ед./мм <sup>2</sup>	R=0,23	R=0,19	R=0,43	R=0,23	R=0,14	R=0,14
ГЦ, ед./мм <sup>2</sup>	R=0,47	<b>R=0,57</b>	<b>R=0,51</b>	<b>R= - 0,49</b>	<b>R=0,49</b>	R=0,44
ПЦ, ед./мм <sup>2</sup>	<b>R=0,64</b>	R=0,44	<b>R=0,51</b>	R= - 0,44	<b>R=0,51</b>	<b>R=0,76</b>
ФБ, ед./мм <sup>2</sup>	R=0,32	R=0,28	<b>R=0,67</b>	R= - 0,32	R=0,21	<b>R=0,55</b>
Язв. дефект, мкм	<b>R=0,63</b>	<b>R=0,71</b>	<b>R=0,63</b>	<b>R=0,51</b>	<b>R=0,68</b>	<b>R=0,68</b>
TDI, у.е.	<b>R=0,74</b>	<b>R=0,71</b>	<b>R=0,68</b>	<b>R=0,78</b>	<b>R=0,71</b>	<b>R=0,71</b>
МПО, ед./мм <sup>2</sup>	R=0,47	<b>R=0,54</b>	<b>R=0,49</b>	<b>R=0,60</b>	<b>R=0,68</b>	<b>R=0,54</b>
TNF- $\alpha$ , ед./мм <sup>2</sup>	R=0,39	<b>R=0,51</b>	<b>R=0,57</b>	<b>R=0,55</b>	<b>R=0,57</b>	<b>R=0,51</b>

**Примечание.** Приведены значения коэффициента корреляции Спирмена ®. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые связи.

силы связей выявлено между DAI и TDI, инфильтрацией гистиоцитами, плазмочитами, размером язвенного дефекта и экспрессией TNF- $\alpha$  и МПО в толстом кишечнике.

### Выводы:

При экспериментальной ТНБС-индуцированной болезни Крона на 3-и, 5-е и 7-е сут наблюдения в толстом кишечнике размер язвенных дефектов, инфильтрация стенки нейтрофилами, лимфоцитами, плазмочитами, гистиоцитами, фибробластами, индекс повреждения ткани, экспрессия МПО и TNF- $\alpha$  ассоциированы с индексом клинической активности заболевания.

Применение каждые 12ч оригинальных ректальных суппозиториев с 0,075 мг экстракта куркумы при экспериментальной БК приводит с максимальным эффектом на 5-е и 7-е сут наблюдения к снижению выраженности клинических и морфологических признаков заболевания, включая размер язвенного дефекта, индекс повреждения ткани, инфильтрацию стенки кишечника нейтрофилами, лимфоцитами, эозинофилами, плазмочитами, гистиоцитами, фибробластами, экспрессию МПО и TNF- $\alpha$ .

### Литература

#### (п.п. 2-4; 8-19 см. References)

1. Ставцев, Д.С., Астрелина Т.А., Азова М.М., Лебедева Л.Л., Пухликова Т.В., Чумак А.А. и др. Иммуногенетические маркеры болезни Крона у взрослого населения Московского региона. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2014; 4: 743-9.
2. Weissshof R., El Jurdi K., Zmeter N. Emerging Therapies for Inflammatory Bowel Disease. *Advances in therapy*. 2018; 35(11): 1746-62.
3. Boozari, M., Butler A., Sahebkar A. Impact of curcumin on toll-like receptors. *Journal of cellular physiology*. 2019; 234(8): 12471-82.
4. Kakhkaie, K.R., Mirhosseini A., Aliabadi A., Mousavi M., Haftcheshmeh S.M., Sathyapalan T., et al. Curcumin: a modulator of inflammatory signaling pathways in the immune system. *Inflammopharmacology*. 2019; 27(5): 885-900.
5. Osikov M.V., Simonyan E.V., Bakeeva A.E., Ogneva O.I. The antioxidant effect of turmeric extract in rectal suppositories of the original composition in experimental Crohn's disease. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2020; 169(3). Available at: <http://iramn.ru/journals/bbm/2020/3/4938> (Accessed: 26 April 2020). (in Russian)
6. Osikov M.V., Simonyan E.V., Bakeeva A.E., Bojko M.S. Comparative analysis of the influence of rectal suppositories with curcumin on the concentration of igg and IgM in blood serum in experimental Crohn's disease. *Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal*. 2019; 13(3): 1235-8. (in Russian)
7. Osikov M.V., Simonyan E.V., Bakeeva A.E. Immune effects of curcuma longa extractum as a part of rectal suppositories in experimental Crohn's disease. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2019; 5. Available at: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=29207> (Accessed: 26.04.2020). (in Russian)
8. Couch, D.G., Maudslay H., Doleman B., Lund J.N. The Use of Cannabinoids in Colitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Inflammatory bowel diseases*. 2018; 24(4): 680-97.
9. Rodrigues de Carvalho, L., de Brito T.V., Simião da C Júnior J., José Dias Júnior G., de Aguiar Magalhães D., Guimarães Sousa S., et al. Epiisopiloturine, an imidazole alkaloid, reverses inflammation and lipid peroxidation parameters in the Crohn disease model induced by trinitrobenzenosulfonic acid in Wistar rats. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2018; 102: 278-85.
10. Zhao, M., Zhu W., Gong J., Zuo L., Zhao J., et al. Dietary Fiber Intake is Associated with Increased Colonic Mucosal GPR43+ Polymorphonuclear Infiltration in Active Crohn's Disease. *Nutrients*. 2015; 7(7): 5327-46.
11. Morris G.P., Beck P.L., Herridge M.S., Depew W.T., Szewczuk M.R., Wallace J.L. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology*. 1989; 96: 795-803.
12. Kim J.J., Shajib M.S., Manocha M.M., Khan W.I. Investigating intestinal inflammation in DSS-induced model of IBD. *Journal of visualized experiments*. 2012; 60. Available at: <https://www.jove.com/video/3678/investigating-intestinal-inflammation-in-dss-induced-model-of-ibd> (Accessed: 26 April 2020).
13. Yao, J., Lu Y., Zhi M., Hu P., Wu W., Gao X. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids ameliorate Crohn's disease in rats by modulating the expression of PPAR- $\gamma$ /NFAT. *Molecular medicine reports*. 2017; 16(6): 8315-8322.
14. Antoniou E., Margonis G.A., Angelou A., Pikouli A., Argiri P., Karavokyros I. The TNBS-induced colitis animal model: An overview. *Annals of medicine and surgery*. 2016; 11: 9-15.
15. Bramhall M., Flórez-Vargas O., Stevens R., Brass A., Cruickshank S. Quality of methods reporting in animal models of colitis. *Inflammatory bowel diseases*. 2015; 21(6): 1248-59.
16. Desai S.J., Prickril B., Rasooly A. Mechanisms of Phytonutrient Modulation of Cyclooxygenase-2 (COX-2) and Inflammation Related to Cancer. *Nutrition and cancer*. 2018; 70(3): 350-75.

### References

1. Stavtsev D.S., Astrelina T.A., Azova M.M., Lebedeva L.L., Puhlikova T.V., Chumak A.A., et al. Immunogenetic markers of Crohn's disease in adult population of the Moscow region. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2014; 4: 743-9. (in Russian)

17. Burge K., Gunasekaran A., Eckert J., Chaaban H. Curcumin and Intestinal Inflammatory Diseases: Molecular Mechanisms of Protection. *International journal of molecular sciences*. 2019; 20(8). Available at: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/8/1912> (Accessed: 18 April 2020).
18. Peterson C.T., Vaughn A.T., Sharma V., Chopra D., Mills P.J., Peterson S.N., et al. Effects of turmeric and curcumin dietary supplementation on human gut microbiota: A double-blind, randomized, placebo-controlled pilot study. *Journal of evidence-based integrative medicine*. 2018; 23: 1-8.
19. Pluta R., Januszewski S., Ułamek-Kozioł M. Mutual Two-Way Interactions of Curcumin and Gut Microbiota. *International journal of molecular sciences*. 2020; 21(3). Available at: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/3/1055> (Accessed: 25 April 2020).

**Сведения об авторах:**

**Осиков Михаил Владимирович**, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патофизиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: prof.osikov@gmail.com;

**Симоная Елена Владимировна**, канд. фарм. наук, доцент, зав. каф. химии и фармации фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: elenasimonian@yandex.ru; **Бакеева Алина Евгеньевна**, лаборант каф. химии и фармации фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: a.kurenkova01@yandex.ru;

**Астахова Людмила Витальевна**, канд. мед. наук, физиотерапевт ГБУЗ «Многопрофильный центр лазерной медицины», e-mail: bonikva@mail.ru

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-092.19

Михайличенко М.И., Шаповалов К.Г., Мудров В.А.

## Комплексная оценка периферической иннервации и изменений колебаний микрокровотока при местной холодовой травме

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, 672000, Чита, Россия, ул. Горького, д. 39-А

Актуальность криопоражений обусловлена большим числом пострадавших, сложностью лечения, длительной утратой трудоспособности, тяжелыми последствиями и, как следствие, высоким уровнем инвалидизации. **Цель исследования** – оценка изменений микрокровотока и периферической иннервации при местной холодовой травме и формирование прогностической модели уровня повреждения конечности.

**Методика.** Под наблюдением было 35 больных с местной холодовой травмой нижних конечностей III-IV степени. Использован неинвазивный метод лазерной доплеровской флоуметрии с помощью аппарата ЛАКК-02, а также метод накожной электронейромиографии с помощью аппарата Нейро-ВМП, компании Нейрософт.

**Результаты.** Несмотря на гипотетически функциональную связь между микрокровотоком кожи и уровнем отморожения пораженной конечности, статистически значимых результатов получено не было ( $p > 0,05$ ), что свидетельствует о более сложном генезе патологических изменений в пораженной конечности. Между тем, у пострадавших с местной криотравмой отмечены выраженные изменения периферической иннервации. Нейропатия прогрессирует с увеличением уровня повреждения.

**Заключение.** У пациентов с местной холодовой травмой отмечается снижение биоэлектрической активности мышц в области пораженной конечности.

**Ключевые слова:** местная холодовая травма; электронейромиография; лазерная доплеровская флоуметрия; дисфункция эндотелия

**Для цитирования:** Михайличенко М.И., Шаповалов К.Г., Мудров В.А. Комплексная оценка периферической иннервации и изменений колебаний микрокровотока при местной холодовой травме. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(2): 78-84.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.78-84

**Для корреспонденции:** Михайличенко Максим Игоревич, e-mail: angelo999@yandex.ru

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, подготовка иллюстрированного материала – Михайличенко М.И.; статистическая обработка – Мудров В.А.; написание текста – Михайличенко М.И., Шаповалов К.Г.; редактирование – Шаповалов К.Г.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарность.** Коллектив авторов выражает благодарность ректорату ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России за финансовую поддержку и возможность реализации научных идей сотрудников академии.

Поступила 30.11.2020

Принята к печати 25.03.2021

Опубликована 30.06.2021

Mikhailichenko M.I., Shapovalov K.G., Mudrov V.A.

## Comprehensive assessment of peripheral innervation and microcirculatory function in local cold trauma

Chita State Medical Academy,  
Gorkogo St, 39A, Chita 672000, Russia

Cryotrauma is relevant due to a large number of patients, the complexity of treatment, the likelihood of severe complications, and long-term disability. **The aim** was to assess oscillations in microcirculation and peripheral innervation during regional cold injury, and to form a prognostic model according to the severity of limb injury.

**Methods.** Studies were carried out in 35 patients with III-IV degree local cold injury of a leg. Non-invasive laser Doppler flowmetry was performed with a LAKK-02 device, and peripheral innervation was evaluated by cutaneous electroneuromyography with a Neurosoft Neuro-VMP device. The patients were divided into 3 groups depending on the injury.

**Results.** Despite the hypothetical, functional relationship between skin microcirculatory blood flow and the degree of frostbite of the affected tissue, no statistically significant association was detected ( $p > 0.05$ ), which indicates a more complex genesis of the cold-induced pathology. However, there were pronounced changes in neural activity in this tissue. Neuropathy increased with increasing injury.

**Conclusions.** In patients with local cold trauma there is a decrease in the bioelectric activity of the muscles in the damaged tissue.

**Keywords:** local cold injury; electroneuromyography; laser doppler fluorometry; endothelial dysfunction

**For citation:** Mikhailichenko M.I., Shapovalov K.G., Mudrov V.A. Comprehensive assessment of peripheral innervation and microcirculatory function in local cold trauma. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(2): 78-84. (in Russian).

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2021.02.78-84

**For correspondence:** Maxim I. Mikhailichenko, candidate of medical science, assistant of the department of surgery, Chita state medical academy, Chita, Russia, e-mail: angelo999@yandex.ru

**Contribution:** study concept and design, collection and treatment of material, preparation of illustrations – Mikhailichenko M.I.; statistics – Mudrov V.A.; text writing – Mikhailichenko M.I., Shapovalov K.G.; editing – Shapovalov K.G.

**Financing.** The study was supported by the Chita state medical Academy, Chita, Russia.

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

**Acknowledgment.** The authors team expresses gratitude to the rectorate of the "Chita state medical Academy" for the financial support and the realization scientific ideas.

**Information about the authors:**

Mikhailichenko M.I., <https://orcid.org/0000-0001-8660-2982>

Shapovalov K.G., <https://orcid.org/0000-0002-3485-5176>

Mudrov V.A., <https://orcid.org/0000-0002-5961-5400>

Received 30.11.2020

Accepted 25.03.2021

Published 30.06.2021

## Введение

Местная холодовая травма в общей структуре травматических повреждений в мирное время в зоне с умеренным климатом составляет около 1%, а в Сибири, на Дальнем Востоке и в Северных регионах достигает 6–20% [1, 2]. Актуальность криопоражений обусловлена большим числом пострадавших, сложностью лечения, длительной утратой трудоспособности, тяжелыми последствиями и, как следствие, высоким уровнем инвалидизации. Патогенез отморожений сложен и многообразен. Вследствие криоповреждения возникают нарушения реологии крови в очаге альтерации и перифокально, что приводит к тромбозам и некрозу тканей пораженных сегментов конечностей. При этом течение раневого процесса чаще всего сопровождается развитием осложнений, увеличением сроков и характера комплексного лечения [3–5]. Последние годы отмечены расширением исследований отечественных и зарубежных авторов по вопросам ранней диагностики глубины поражения тканей и прогнозирования исходов местной холодовой травмы [2]. У большинства специалистов не вызывает сомнений ведущая роль нарушений кровообращения и иннервации в патогенезе отморожений [1, 2, 6, 7].

В немногочисленных исследованиях, касающихся изучения микроциркуляции (МЦ) с помощью лазер-

ной доплеровской флоуметрии у пациентов с местной холодовой травмой показано, что нарушение микроциркуляции является ключевым звеном повышения капиллярного и интерстициального сопротивления, а, следовательно, прогноз криоповреждения имеет прямую корреляционную зависимость от показателей микрокровотока. Работы по измерению биоэлектрической активности нервно-мышечного аппарата при местной холодовой травме в современной литературе немногочисленны [3], хотя электронейромиография (ЭНМГ) применяется в прогнозировании исходов той или иной патологии достаточно часто. Доказана эффективность этого неинвазивного способа у пациентов с сахарным диабетом, тяжелой пренатальной патологией и у больных с сосудистыми катастрофами различной локализации [7–9].

В клинической практике важным и актуальным представляется комплексная оценка состояния МЦ и ЭНМГ потенциалов с целью оптимизации прогнозирования развития осложнений, и, как следствие, своевременной коррекции с помощью соответствующей комплексной терапией. Также немаловажное значение имеет прогнозирование уровня повреждения и течения раневого процесса при локальной холодовой травме. Известно, что четкую границу альтерации в на-

чальных периодах криповреждения выявить не представляется возможным [3, 7, 12].

**Цель исследования** – оценка изменений микрокровотока и периферической иннервации при местной холодовой травме и формирование прогностической модели уровня повреждения конечности.

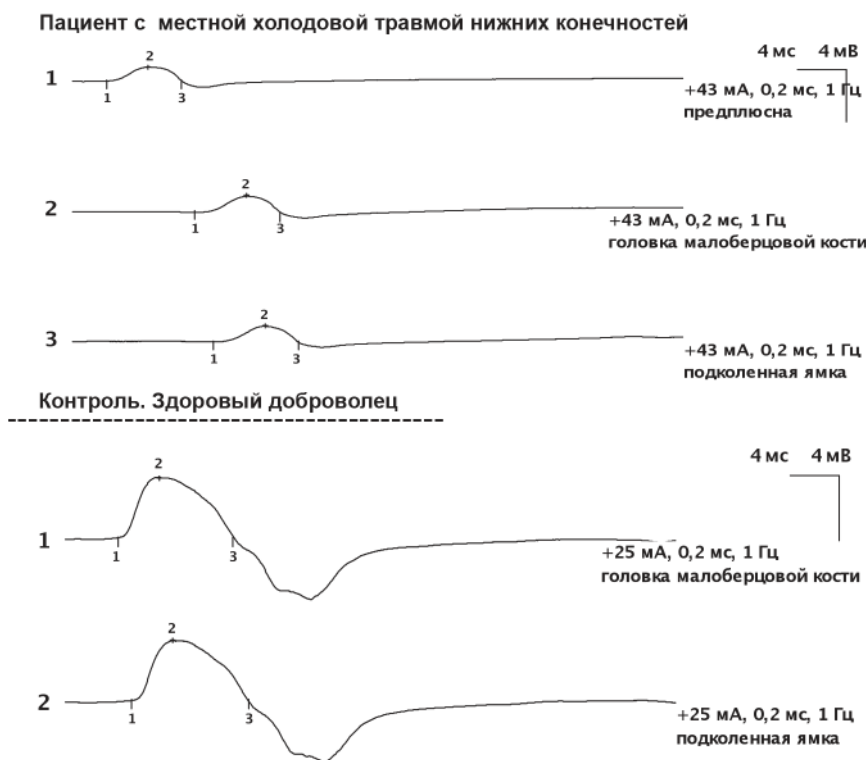
**Методика**

Для оценки состояния микроциркуляторного русла использован неинвазивный метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с помощью аппарата ЛАКК-02 (НПП «Лазма», Россия) [5]. Показатели ЛДФ регистрировались в течение 8 мин, фиксировались перфузионные единицы (пф.ед.). Датчик устанавливали по передней поверхности в средней трети голени. Оценивались: показатель микроциркуляции (пф.ед.), показатель шунтирования (пф.ед.) и максимальная амплитуда нейрогенного (пф.ед.) диапазона колебаний сосудистой стенки.

Для оценки биоэлектрической активности мышц применялась накожная ЭНМГ с помощью аппарата Нейро-ВМП, компании Нейрософт (г. Иваново). Проводилась накожная стимуляционная электронейромио-

ография пораженной конечности импульсами в диапазоне 10-35 мА, продолжительностью 200-300 мс. При исследовании регистрирующий активный электрод располагали на 5 см ниже бугристости большеберцовой кости и на 1 см латеральнее гребня большеберцовой кости; регистрирующий референтный электрод располагали на 6 см ниже активного регистрирующего электрода, в проекции сухожилия передней большеберцовой мышцы. Регистрация проводилась с *m. Tibialis anterior*, иннервирующийся нерв – *n. Peroneus profundus*. Точка стимуляции – на 2 см латеральнее бугристости большеберцовой кости. Оценивались амплитуда М-ответа, резидуальная латентность и скорость распространения возбуждения (**рисунок**).

Исследования проводились у 40 (25 мужчин и 15 женщин) больных с местной холодовой травмой III-IV степени нижних конечностей в позднем реактивном периоде травмы. Средний возраст пациентов 41±7,2 год. Пострадавшие находились на стационарном лечении в областном центре термической травмы на базе ГУЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Читы в 2017 – 2018 гг. Контрольную группу составили 28 относительно здоровых добровольцев, средний воз-



Примеры электронейромиограмм.



раст которых варьировал в пределах  $39 \pm 7,4$  лет. Все пациенты и добровольцы, участвовавшие исследовании, давали письменное добровольное информированное согласие. Исследование выполнено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (в ред. 2013 г.). Протокол исследования одобрен Этической комиссией Читинской государственной медицинской академии

Больные разделены на 3 группы в зависимости от уровня холодового повреждения: 1-я группа – отморожения только пальцев стоп; 2-я группа – граница поражения распространялась до предплюсно-плюсневое сочленения; 3-я группа – отморожение захватывающее более проксимальные отделы нижней конечности, но не выше нижней трети голени.

При проведении статистического анализа авторы руководствовались принципами Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL). Нормальность распределения признаков, учитывая численность исследуемых групп менее 50 человек, оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка. Учитывая распределение признаков, отличное от нормального во всех исследуемых группах, полученные данные представляли в виде медианы, первого и третьего квартилей:  $Me [Q_1; Q_3]$ .

Ранговый анализ вариаций по Краскелу–Уоллису (H) выполняли для сравнения четырех независимых групп (трех исследуемых и группы контроля) по одному количественному признаку. Затем, при наличии статистически значимых различий, проводили попарное сравнение с помощью критерия Манна–Уитни (U) с поправкой Бонферрони. Результаты считали статистически значимыми при  $p < 0,01$ . Для определения фактической степени параллелизма между уровнем

криповреждения и значениями исследуемых параметров использовали коэффициент корреляции Спирмена. Силу связи между исследуемыми параметрами определяли по шкале Чеддока. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (International Business Machines Corporation, США).

## Результаты

Несмотря на гипотетически функциональную связь между микрокровоотоком кожи и уровнем отморожения пораженной конечности, статистически значимых результатов получено не было ( $p > 0,05$ ), что свидетельствует о более сложном генезе патологических изменений в пораженной конечности (табл. 1). В то же время у пострадавших с местной криотравмой отмечены выраженные изменения периферической иннервации (табл. 2).

Обращает на себя внимание тот факт, что нейропатия прогрессирует с увеличением уровня повреждения. Амплитуда моторного ответа у пациентов 1-й группы была ниже в сравнении с группой контроля в 2,92 [2,78; 3,28] раза ( $U = 0,0, p < 0,001$ ), 2-й группы – в 4,37 [4,2; 5,2] раза ( $U = 0,0, p < 0,001$ ), 3-й группы – в 7,00 [5,59; 7,43] раз ( $U = 0,0, p < 0,001$ ). Кроме того, значения амплитуды М-ответа статистически значимо различались во всех исследуемых группах ( $U \leq 164,5, p < 0,001$ ). Резидуальная латентность в исследуемых группах напротив была выше группы контроля: у пациентов 1-й группы в 1,41 [1,34; 1,47] раза ( $U = 0,0, p < 0,001$ ), у больных 2-й группы в 1,72 [1,66; 1,79] раза ( $U = 0,0, p < 0,001$ ), у пострадавших 3-й группы – в 2,37 [2,29; 2,46] раз ( $U = 0,0, p < 0,001$ ). В исследуемых группах уровень резидуальной латентности статистически значимо различался ( $U \leq 39,0, p < 0,001$ ). Скорость рас-

Таблица 1

Показатели микрокровоотока кожи средней трети голени при отморожениях нижних конечностей

Показатели микроциркуляции	Контроль, n=28	1-я группа, n=15	2-я группа, n=15	3-я группа, n=10	Статистическая значимость
Показатель микроциркуляции (пф. ед.)	5,92 [5,59; 6,26]	4,80 [4,38; 5,83]	2,59 [2,31; 4,54]	5,60 [2,54; 11,41]	H = 4,35, df = 3, p = 0,23
Показатель шунтирования (пф. ед.)	1,41 [1,31; 1,50]	1,40 [1,28; 1,59]	1,75 [1,53; 2,24]	1,99 [0,91; 2,77]	H = 3,07, df = 3, p = 0,38
Максимальная амплитуда нейрогенного диапазона колебаний сосудистой стенки (пф. ед.)	0,34 [0,31; 0,37]	0,39 [0,33; 0,46]	0,20 [0,16; 0,32]	0,30 [0,12; 0,75]	H = 2,77, df = 3, p = 0,43

пространения возбуждения у пациентов 1-й группы была ниже, чем в группе контроля, в 1,16 [1,12; 1,21] раза ( $U = 13,0, p < 0,001$ ), у больных 2-й группы – в 1,59 [1,51; 1,63] раза ( $U = 0,0, p < 0,001$ ), у пострадавших 3-й группы – в 2,05 [1,93; 2,08] раза ( $U = 0,0, p < 0,001$ ). Показатель скорости распространения возбуждения статистически значимо отличался во всех исследуемых группах ( $U \leq 58,0, p < 0,001$ ).

Между тем, определенный интерес представляет не только оценка статистической значимости различий между значениями показателей в исследуемых группах, но и оценка фактической степени параллелизма между уровнем отморожения и изучаемыми параметрами (табл. 3).

### Обсуждение

Таким образом, между резидуальной латентностью и уровнем отморожения имеется наиболее тесная корреляционная связь, близкая к функциональной, что наряду со статистической значимостью обуславливает необходимость учитывать данный параметр в качестве основополагающего при прогнозировании уровня криоповреждения [12, 14].

В ходе исследования установлено, что у пострадавших с местной холодовой травмой происходит син-

хронное изменение показателей ЭНМГ и ЛДФ. Значительное снижение амплитуды М-ответа, показателя микроциркуляции и одновременное повышение показателя шунтирования указывает на комплексный дефицит кровенаполнения пораженной конечности и периферическую «острую» нейропатию, которые связаны с нарастающей дисфункцией эндотелия и острым периферическим интравазальным и экстравазальным воспалением [5, 6, 9, 13]. Увеличение уровня повреждения конечности сопровождается усугублением изменений показателей ЭНМГ. Это отражено в «сильной» корреляционной связи между амплитудой М-ответа, скоростью распространения возбуждения и уровнем пораженных тканей (табл. 3). Вероятно, увеличению зоны альтерации способствует неблагоприятный цитокиновый фон и распространение зоны паранекроза значительно выше уровня альтерации. Сравнительно недавно показано, что в крови, оттекающей от пораженной конечности, уровень провоспалительных цитокинов значительно превышает нормальное значение [5]. Это явление нашло отражение и в нарастающей периферической нейропатии относительно уровня пораженных тканей (табл. 3).

Выявленные механизмы расстройств микрокрово-

Таблица 2

Показатели ЭНМГ у пациентов с местной холодовой травмой

Показатели ЭНМГ	Контроль, n=28	1-я группа, n=15	2-я группа, n=15	3-я группа, n=10	Статистическая значимость
Амплитуда М-ответа (мВ)	3,50 [3,36; 3,64]	1,20 [1,11; 1,21]	0,80 [0,70; 0,80]	0,50 [0,49; 0,57]	$H = 80,44, df = 3, p < 0,001$
Резидуальная латентность (мс)	3,20 [3,11; 3,26]	4,50 [4,37; 4,58]	5,50 [5,41; 5,56]	7,50 [7,47; 7,65]	$H = 77,73, df = 3, p < 0,001$
Скорость распространения возбуждения (мс)	43,0 [42,13; 43,37]	37,00 [35,88; 37,48]	27,00 [26,55; 27,95]	21,00 [20,87; 21,84]	$H = 67,61, df = 3, p < 0,001$

Таблица 3

Фактическая степень параллелизма между уровнем отморожения и показателями ЭНМГ

Показатель ЭНМГ	Коэффициент корреляции Спирмена	95% ДИ	Сила связи по шкале Чеддока	Статистическая значимость
Амплитуда М-ответа	-0,78	-0,93; -0,72	обратная высокая	$p < 0,001$
Резидуальная латентность	0,95	0,93; 0,97	прямая высокая	$p < 0,001$
Скорость распространения возбуждения	-0,92	-0,96; -0,89	обратная высокая	$p < 0,001$

при атеросклерозе сосудов конечностей [6]. В случае острой локальной холодовой травмы основным патогенным фактором в инициации дисфункции эндотелия является асептическое воспаление, и как следствие, активация иммунного повреждения клеток эндотелия [5]. Данная теория атеросклероза в настоящее время активно изучается и имеет серьезную доказательную базу [7].

В очаге альтерации происходит активная экспрессия на поверхности эндотелия адгезивных молекул ICAM-1, ICAM-2, VCAM, E – и P – селектины, а также большое количество тромбогенных молекул, в частности фактора фон Виллебранда, тромбосана A2 и ингибитора активатора плазминогена [7]. Необходимо указать, что дисбаланс происходит в сторону вазоконстрикции. Это отражается на снижении показателя микроциркуляции и увеличении сброса крови по артериовенозным шунтам в обход нутритивного звена микроциркуляторного русла, возрастает показатель шунтирования. Нарастающая гипоксия еще более угнетает выработку важнейших периферических вазодилататоров, в частности оксида азота (NO) и простоциклина I<sub>2</sub> (P<sub>g</sub>I<sub>2</sub>) [16]. Таким образом, замыкается порочный круг.

Описанный нами ранее процесс лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у пациентов с местной холодовой травмой способствует миграции активированных нейтрофилов и моноцитов в интерстициальное пространство, где они продолжают реализовывать свои разноплановые функции [6]. Происходит активная выработка провоспалительных цитокинов, протеолитических ферментов и активных форм кислорода, что, вне всякого сомнения, негативно сказывается на периферической нервной ткани и провоцирует ригидность гладкой мускулатуры сосудов [4, 14, 16]. И вновь этот факт подтверждается снижением скорости распространения возбуждения, амплитуды нейрогенного диапазона и повышение резидуальной латентности у пациентов с местной холодовой травмой. Выявленные изменения усугубляются с увеличением объема поврежденных тканей (табл. 3). Описанный недавно феномен внеклеточных нейтрофильных ловушек, возможно, реализуется и у пациентов с местной холодовой травмой [7].

Установлена обратная умеренная связь по шкале Чеддока между скоростью распространения возбуждения и показателем шунтирования ( $r = -0,3$ ,  $p < 0,001$ ). Прямой сброс крови из артерии в вену, минуя капиллярное русло, провоцирует значительное снижение артериального давления в капиллярах и уменьшению напряжения сдвига [2, 4]. Компенсаторно активированные эндотелиальные клетки про-

дуцируют значительное количество вазоконстрикторов, еще более усугубляя вазоспазм и локальное воспаление. Нарастающий отек, реализация иммунных процессов в интерстиции способствует демиелинизации нервных волокон, что нашло свое отражение в показателях ЭНМГ. Вместе с тем, холодовая альтерация способствует повреждению нервных структур, что провоцирует постоянную патологическую импульсацию и, как следствие, периферический вазоспазм [1]. Открываются артериовенозные шунты. О первичности данных процессов говорить сложно, не исключается и двойственная природа корреляционной связи. Эту гипотезу подтверждает содружественное увеличение резидуальной латентности и показателя шунтирования, между этими показателями выявлена прямая умеренная связь по шкале Чеддока ( $r = 0,4$ ,  $p < 0,001$ ).

Таким образом, комплексный анализ параметров электронейромиографии является надежным методом ранней диагностики уровня поражения дистальных сегментов нижних конечностей при местной холодовой травме III-IV степени.

#### Выводы:

1. У пациентов с местной холодовой травмой отмечается повышение резидуальной латентности, а также снижение амплитуды М-ответа и скорости распространения возбуждения в области пораженной конечности.

2. У пострадавших с криотравмой выявлена обратная сила связи между амплитудой М-ответа, резидуальной латентностью и уровнем повреждения тканей. Установлена прямая сила связи между скоростью распространения возбуждения и массивом поврежденных тканей. Сила связи по шкале Чеддока во всех случаях высокая.

3. Установлена прямая связь умеренной силы по шкале Чеддока между резидуальной латентностью и показателем шунтирования и обратная связь умеренной силы между показателем шунтирования и скоростью распространения возбуждения.

4. Резидуальная латентность является наиболее оптимальным показателем для прогнозирования уровня криоповреждения.

#### Литература

1. Николаев В.М., Алексеев Р.З., Федорова С.А. Интенсивность свободнорадикального окисления липидов в организме больных холодовой травмой. *Якутский медицинский журнал*. 2018; 2(62): 34-8.
2. Целуйко С.С., Заболотских Т.В., Дудариков С.А., Красавина Н.П., Корнеева Л.С. Действие холода на организм. Криопротекторы и средства противоишемической защиты тканей. *Якутский медицинский журнал*. 2018; 2(62): 48-55.

3. Михайличенко М. И., Шаповалов К. Г., Мудров В. А., Фигурский С. А., Михайличенко С. И. Динамика нейромышечной активности у пациентов с местной холодовой травмой. *Вестник хирургии имени И. И. Грекова*. 2019; 178(5): 47–51. <https://doi.org/10.24884/0042-4625-2019-178-5-47-51>
4. Васина Л.В., Власов Т.Д., Петрищев Н.Н. Функциональная гетерогенность эндотелия (обзор). *Артериальная гипертензия*. 2017; (23): 88–102.-
5. Шаповалов К.Г., Сизоненко В.А., Бурдинский Е.Н. Изменения сосудистого тонуса и показателей микроциркуляции при отморожении нижних конечностей. *Вестник хирургии имени Грекова*. 2008; 3(1): 67–8.
6. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии. *Медицинская иммунология*. 2006; 8(5-6): 745–53.
7. Паршина А.А., Цыбиков Н.Н. Иммунологические аспекты патогенеза атеросклероза. *Забайкальский медицинский вестник*. 2018; 4(1): 133–44.
8. Сивицкая Л.Н., Даниленко Н.Г., Барановская Е.И., Давыденко О.Г. Гестоз: некоторые генетические механизмы развития. *Медицинская генетика*. 2014; 13: 3-9.
9. Анциферова О.Е., Юракова А.В., Локтева Т.И., Северинова О.В., Гуреев В.В. Коррекция триметазидином эндотелиальной дисфункции при АДМА-подобной преэклампсии. *Смоленский медицинский альманах*. 2018; 4: 174–5.
10. Руюткина Л.А., Руюткин Д.С. Панкреатогенный сахарный диабет/сахарный диабет типа 3с состояние проблемы. *Медицинский совет*. 2018; 4: 28–35.
11. Vasina L.V., Vlasov T.D., Petrishchev N.N. Functional heterogeneity of the endothelium (review). *Arterialnaya hipertensiya*. 2017; 23(2): 88–102. (In Russian)
12. Shapovalov K.G., Sizonenko V.A., Burdinski E.N. Changes in vascular tone and indicators of microcirculation in frostbite of the lower extremities. *Vestnik khirurgii im. Grekova*. 2008; 3(1): 67–8. (In Russian)
13. Vitkowsky Y.A., Kuznik B.I., Solpov A.V. Pathogenetic significance of lymphocyte-platelet adhesion. *Meditsinskaya immunologiya*. 2006; 8(5-6): 745–53. (In Russian)
14. Parshina A.A., Tsubikov N.N. The Immunological aspects of the pathogenesis of atherosclerosis. *Zabaykalskiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; 4(1): 133 – 44. (In Russian)
15. Savitskaya L.N., Danilenko N.G., Baranovskaya E.I., Davydenko O.G. Gestosis: some genetic mechanisms of its development. *Meditsinskaya genetika*. 2014; 13(10): 3-9. (In Russian)
16. Antsyferova O.E., Yurakova A.V., Lokteva T.I., Severinova O.V., Gureev V.V. Trimetazidine correction of endothelial dysfunction in ADMA-like preeclampsia. *Smolenskiy meditsinskiy almanakh*. 2018; 4: 174-5. (In Russian)
17. Ruyatkina L.A., Rutkin D.S. Pancreatogenic diabetes mellitus/diabetes mellitus type 3C: current status problems. *Meditsinskiy sovet*. 2018; 4: 28-35. (In Russian)
18. Rajendran P., Rengarajan I., Thangavel J., et al. The vascular endothelium and human diseases. *Int. J. Biol. Sci*. 2013; 9(10): 1057–1069. DOI: 10.7150
19. Kingma C.F., Hofman I.I., Daanen H.M. Relation between finger cold-induced vasodilation and rewarming speed after cold exposure. *Eur J Appl Physiol*. 2019; 119 (1): 171–80. DOI: 10.1007
20. Miao M.S., Xiang L.L., Bai M., Cao L.H. Frostbite animal model preparation specification (Draft). *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2018; 43(2): 410-4. DOI: 10.19540
21. Pan Y., Thapa D., Baldissera L. Jr., Argunhan F., Aubdool A.A., Brain S.D. Relevance of TRPA1 and TRPM8 channels as vascular sensors of cold in the cutaneous microvasculature. *Pflugers Arch*. 2018; 470 (5): 779–86. DOI: 10.1007
22. Özkaya Ö, Yasak T, Üsçetin İ, Kayadibi T. Reversed First Dorsal Metatarsal Artery Island Flap for First Ray Defects. *J. Foot Ankle Surg*. 2018; 57(1): 184–7. DOI: 10.1053
23. Franko O.I., Stern P.J. Use and Effectiveness of Ethyl Chloride for Hand Injections. *J. Hand Surg Am*. 2017; 42(3): 175–81.e1. DOI: 10.1016
24. Cauchy E., Davis C.B., Pasquier M., Meyer E.F., Hackett P.H. A New Proposal for Management of Severe Frostbite in the Austere Environment. *Wilderness Environ Med*. 2016; 27 (1): 92–9. DOI: 10.1016

## References

1. Nikolaev V.M., Alekseev R.Z., Fedorova S.A. Intensity of free radical oxidation of lipids in the body of patients with cold injury. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; 2(62): 34–8. (In Russian)
2. Tseluyko S.S., Zabolotskikh T.V., Dudnikov S.A., Krasavina N.P., Korneeva L.S. The Effect of cold on the body. Cryoprotectants and means of anti-ischemic protection of fabrics. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; 2(62): 48–55. (In Russian)
3. Mikhailichenko M. I., Shapovalov K. G., Mudrov V. A., Figursky S. A., Mikhailichenko S. I. Dynamics of neuromuscular activity in patients with frostbite. *Vestnik khirurgii im. Grekova*. 2019; 178(5): 47–51. <https://doi.org/10.24884/0042-4625-2019-178-5-47-51>. (In Russian)

## Сведения об авторах:

**Михайличенко Максим Игоревич**, канд. мед. наук, ассистент каф. факультетской хирургии с курсом урологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: angelo999@yandex.ru, SPIN-код: 4975–6313;

**Шаповалов Константин Геннадьевич**, доктор мед. наук, проф., зав. каф. анестезиологии и реаниматологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», e-mail: shkg26@mail.ru, SPIN-код: 6086–5984;

**Мудров Виктор Андреевич**, канд. мед. наук, доцент каф. акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», e-mail: mudrov\_viktor@mail.ru, SPIN-код: 5821–3203

© Коллектив авторов, 2021

УДК 591.169.2

Пономарев И.Н., Макаров М.С., Боровкова Н.В., Андреев Ю.В., Сторожева М.В., Будаев А.А.

## Особенности раневого процесса при лечении поверхностных ожогов с помощью коллагеновых раневых покрытий, насыщенных тромбоцитами (экспериментальное исследование)

ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» Департамента здравоохранения города Москвы, 111218, Москва, Россия, Большая Сухаревская пл., д. 3

**Введение.** При поверхностных ожогах процесс репарации происходит благодаря активности стволовых клеток и клеток-предшественников, сохранившихся в ране. Стимуляция миграционной, пролиферативной и секреторной активности этих клеток может быть инициирована с помощью компонентов, содержащихся в гранулах тромбоцитов. Значительно повысить сохранность тромбоцитарных гранул можно путем предварительной стабилизации тромбоцитов с помощью наночастиц серебра.

**Цель исследования** – изучение репаративного эффекта коллагеновых повязок, насыщенных тромбоцитами, при лечении мышей с поверхностными ожогами.

**Методика.** В работе использовались 3 типа раневых покрытий: коллагеновая повязка без тромбоцитов (контроль); повязка с нативными тромбоцитами (1-я опытная группа); повязка с тромбоцитами, предварительно стабилизированными 2,5 мкМ наносеребра (2-я опытная группа). Тромбоциты выделяли из венозной крови доноров-добровольцев, консервированной на ЭДТА. Для стабилизации тромбоцитов в исходную суспензию с тромбоцитами предварительно добавляли раствор наносеребра до достижения концентрации 2,5 мкМ и инкубировали при 22 °С в течение 1 ч. Во всех опытах общее количество тромбоцитов с гранулами (биологически полноценные тромбоциты) в повязках составило 30-31 млн. После нанесения тромбоцитов раневые покрытия экспонировали в течение 30 мин при 37 °С, затем удаляли всю жидкую фракцию с неадгезировавшими тромбоцитами. Готовые повязки хранили при -40 °С и размораживали непосредственно перед экспериментом.

**Результаты.** Через 3 сут у животных контрольной группы наблюдалась выраженная воспалительная реакция и значительная деформация коллагеновых волокон дермы, в опытных группах эти процессы были менее выражены. Использование коллагеновых повязок с тромбоцитами существенно усиливало миграцию эпителиальных клеток из дериватов кожи, а также миграцию фибробластов из глубоких слоев дермы. Через 5 сут эпителизация раны в контроле была частичной, тогда как у опытных животных эпителий был непрерывным по всей площади раны. В опытных группах сохранялась высокая миграционная активность эпителиальных клеток и фибробластов. Структурно деформированные волокна коллагена не выявлялись в опытных группах. Декомпрессия и отечность волокон в контрольной группе наблюдалась по всей глубине дермы, тогда как в опыте отежные волокна присутствовали только в сетчатом слое дермы.

**Заключение.** Использование коллагеновых повязок с тромбоцитами ускоряло процессы эпителизации и восстановления волокон дермы на фоне сохранения локальной инфильтрация раны воспалительными клетками.

**Ключевые слова:** коллагеновые повязки; тромбоциты; миграция клеток; эпителизация; автофлуоресценция коллагена

**Для цитирования:** Пономарев И.Н., Макаров М.С., Боровкова Н.В., Андреев Ю.В., Сторожева М.В., Будаев А.А. Особенности раневого процесса при лечении поверхностных ожогов с помощью коллагеновых раневых покрытий, насыщенных тромбоцитами (экспериментальное исследование). *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(2): 85-93.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.85-93

**Для корреспонденции:** Макаров Максим Сергеевич, e-mail: mcsimm@yandex.ru

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Боровкова Н.В., Пономарев И.Н.; сбор и обработка материала – Пономарев И.Н., Макаров М.С., Андреев Ю.В., Сторожева М.В., Будаев А.А.; подготовка иллюстративного материала – Макаров М.С., Боровкова Н.В.; статистическая обработка – Макаров М.С., Сторожева Н.В., Андреев Ю.В.; написание текста – Макаров М.С., Боровкова Н.В.; редактирование – Макаров М.С.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 30.04.2020

Принята к печати 25.03.2021

Опубликована 30.06.2021

Ponomarev I.N., Makarov M.S., Borovkova N.V., Andreev Yu.V., Storozheva M.V., Budaev A.A.

**Reparative process in superficial burns treated with wound cover, including collagen bands and platelets (experimental study)**N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine,  
Bolshaya Sukharevskaya Ploshchad 3, Moscow 111218, Russian Federation

Activity of stem cells and primordial cells is the main reparative factor in healing of superficial burns. Components of platelet granules could stimulate cell migration, proliferation, and secretion. Survival of platelet granules can be enhanced by prior platelet stabilization with silver nanoparticles. **The aim** of this work was to study reparative effect of collagen bands, saturated with platelets, on mice with superficial burns.

**Methods.** Three types of wound coatings were used: 1) collagen bands without platelets (control); 2) collagen bands with native platelets (1st experimental group); 3) collagen bands with platelets, prestabilized with 2.5  $\mu\text{M}$  nanosilver (2nd experimental group). Platelets were harvested from venous blood of volunteer donors preserved in EDTA. Platelet were stabilized by incubation with 2.5  $\mu\text{M}$  nanosilver at 22°C for 1 hr. In all experiments, the collagen bands contained 30-31 million platelets with granules, i.e., biologically normal platelets. Collagen bands were incubated with platelets at 37°C for 30 min, and then all solution with unadhered platelets was eliminated. Experimental bands were stored at -40°C and defrosted immediately before experimental treatment.

**Results.** After three days of treatment, the control group had a pronounced inflammatory reaction and significant deformation of dermal collagen fibers. In the experimental groups, these processes were less pronounced. Collagen bands with platelets significantly increased migration of epithelial cells from the skin derivatives and migration of fibroblasts from the deep dermal layers. After five days, the epithelization of wounds in the control group was partial, while in experimental groups, epithelium covered all areas of the wound. Experimental groups maintained high migration activity of epithelial cells and fibroblasts. Structurally deformed collagen fibers were detected sporadically in the control group and were not detected in the experimental groups. Decompactization and swelling of fibers in the control group were observed throughout the depth of the derma, while in the experiment groups, swollen fibers were present only in the deep dermal layer.

**Conclusion.** The use of collagen bands with platelets accelerated the processes of epithelization and collagen remodeling associated with preserved local infiltration of the wound with inflammatory cells.

**Keywords:** collagen band; platelets; cell migration; epithelization; collagen autofluorescence

**For citation:** Ponomarev I.N., Makarov M.S., Borovkova N.V., Andreev Yu.V., Storozheva M.V., Budaev A.A. Reparative process in superficial burns, treated with wound cover, including collagen bands and platelets (experimental study). *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(2): 85-93. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.85-93

**For correspondence:** Maksim S. Makarov, Candidate of Biological Sciences, Principal Researcher, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of Moscow Healthcare Department, Bolshaya Sukharevskaya sq., 3, Moscow, Russia

**Contribution:** study concept and design – Borovkova N.V., Ponomarev I.N.; collection and treatment of materials – Ponomarev I.N., Makarov M.S., Andreev Yu.V., Storozheva M.V., Budaev A.A.; statistics – Makarov M.S., Andreev Yu.V., Storozheva M.V.; preparation of illustrative material – Makarov M.S., Borovkova N.V.; text writing – Makarov M.S., Borovkova N.V.; editing – Makarov M.S.

**Information about the authors:**Ponomarev I.N., <https://orcid.org/0000-0002-2523-6939>**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 30.04.2020

Accepted 25.03.2021

Published 30.06.2021

**Введение**

Сокращение сроков эпителизации ран после поверхностного ожога (2 степень по МКБ-10) остаётся актуальной задачей. Она обусловлена выраженным болевым синдромом в зоне поражения, потерей плазмы крови, утратой кожей барьерной функции, выражающейся в увеличении проницаемости для патогенных агентов [1-5]. При этом эффективная эпи-

телизация должна сопровождаться восстановлением нормальной структуры подлежащих слоев дермы. Процесс репарации при поверхностном ожоге во многом происходит благодаря активности стволовых клеток и клеток-предшественников, сохранившихся в ране [3, 5] поэтому стимуляция миграционной, пролиферативной и секреторной активности этих кле-

ток очень важна для запуска репаративных процессов. Неоднократно показано биокондуктивное действие коллагеновых матриц при лечении ран [2, 4]. Репаративный эффект коллагена дополнительно повышается при насыщении его факторами роста клеток. В НИИ СП им. Н.В. Склифосовского получен положительный опыт клинического применения раневых повязок на основе коллагена I типа с тромбоцитарным фактором роста (PDGF-BB) при лечении поверхностных ожоговых ран. При этом сокращение сроков эпителизации ран и госпитализации происходит вне зависимости от площади поражения [5, 6]. В настоящий момент актуальным является подбор эффективных источников факторов роста клеток для комбинирования с коллагеновыми покрытиями. Известно, что тромбоциты человека содержат большой объем PDGF, а также широкий спектр других ростовых факторов [7, 8]. В норме эти компоненты содержатся в составе тромбоцитарных гранул и выделяются в процессе активации тромбоцита, в том числе — при контакте с коллагеновыми матриксами. В итоге существенная доля рост-стимулирующих факторов может быть утрачена. С целью предотвращения потери потенциала роста разработана методика стабилизации тромбоцитов, способствующая сохранению (стабилизации) гранул внутри клеток при их адгезии на биологическом носителе [9]. В исследовании *in vitro* выявлено увеличение пролиферативной активности фибробластов при культивировании на коллагеновых повязках с тромбоцитами, стабилизированными наносеребром [10]. С учётом полученных данных следующим шагом стало настоящее исследование, целью которого явилось изучение особенностей эпителизации поверхностных ожогов при использовании стабилизированных или нестабилизированных тромбоцитов на коллагеновом раневом покрытии.

### Методика

Экспериментальное исследование репарации поверхностной раны эквивалентной ожогу II степени (по МКБ 10) проводили на линии беспородных белых мышей массой 25–30 г, возраст 3–5 мес. При проведении эксперимента руководствовались Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях № 123 от 18.03.1986 г. и Приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.1975 г. Животных наркотизировали внутрибрюшинным введением кетамина (20 мкл/1 г массы мыши). Животным наносили ожог стальной печаткой диаметром 12 мм, которую предварительно нагревали до 100 °С в кипящей воде. Через 5–10 мин после нанесе-

ния ожога эпидермис механически отслаивали от подлежащей дермы. Для предотвращения контракции раны у всех животных по краю раны подшивали полихлорвиниловое кольцо диаметром 12 мм. После этого на рану укладывали раневые покрытия и фиксировали их марлевыми тампонами. Контрольную группу составили животные, у которых в качестве раневого покрытия использовалась повязка на основе коллагена I-го типа без тромбоцитов. В 1-й опытной группе использовали повязки с нативными (нестабилизованными) тромбоцитами, во 2-й тромбоциты перед нанесением на повязки предварительно инкубировали с наночастицами серебра (повязки со стабилизированными тромбоцитами). Сверху укладывали стерильные марлевые тампоны, которые фиксировали к кольцу швами.

Животных из эксперимента выводили летальной дозой кетамина на 3-и и 5-е сут после операции по 5 мышей на срок. Макроскопически оценивали размер раны, наличие и выраженность признаков воспаления, наличие и выраженность признаков эпителизации, восстановление волосяного покрова. Ткани области раны иссекали для гистологического исследования. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван Гизону. Для микроскопии использовали Nikon Eclipse 80i, совмещенный с флуоресцентной лампой. В проходящем свете оценивали интенсивность воспалительной инфильтрации тканей, островковую и краевую эпителизацию, миграцию фибробластов в область раны. Дополнительно оценивали уровень автофлуоресценции коллагеновых волокон ( $\lambda$  возбуждения — 510–560 нм,  $\lambda$  эмиссии — от 575 нм, время экспозиции — 1 с). Автофлуоресценция коллагена позволяет оценить топографию межклеточного матрикса, его целостность, наличие измененных или поврежденных структур [11]. В норме интенсивность автофлуоресценции коллагеновых волокон кожи составляет 30–60 фут-кандел. Значение данного показателя ниже 30 фут-кандел свидетельствует о диссоциации волокон, превышение выше 60 фут-кандел — об их коагуляции вследствие химического или термического повреждения. В незрелых коллагеновых волокнах уровень автофлуоресценции заметно снижен по сравнению с нормой. Насыщение покрытий на основе коллагена I типа стабилизированными или нестабилизированными тромбоцитами проводили заблаговременно до эксперимента. Тромбоциты выделяли из венозной крови доноров-добровольцев, консервированной ЭДТА, путём двухэтапного центрифугирования при 300 и 700 g. В конечной суспензии концентрация тромбоцитов составляла не менее  $1000 \cdot 10^9$ /л. Для стабилизации тромбоцитов наночастицами серебра в исходную суспензию с тром-

боцитами предварительно добавляли раствор наносеребра «Ag-Бион 2» («Наноиндустрия», Россия) до достижения концентрации 2,5 мкМ и инкубировали при 22 °С в течение 1 ч. Во всех опытах общий объем суспензии тромбоцитов, нанесенных на покрытия, составлял 150 мкл, количество тромбоцитов с гранулами (биологически полноценные тромбоциты) в повязках составило 30–31 млн. После нанесения тромбоцитов раневые покрытия экспонировали в течение 30 мин при 37 °С, затем удаляли всю жидкую фракцию с неадгезировавшими тромбоцитами. Готовые повязки хранили при -40 °С и размораживали непосредственно перед экспериментом.

### Результаты

На 3-и сут после операции у животных всех групп марлевый тампон легко отделялся от раневого покрытия, которое было плотно фиксировано к ране. У животных как в опытах, так и в контроле местные признаки воспаления были выражены слабо, отечность мягких тканей отмечена лишь на небольших участках, гиперемия кожи вокруг раны отсутствовала.

При гистологическом исследовании у всех животных контрольной и опытных групп на большей части раны эпителий был заметно поврежден или отсутствовал. У животных контрольной группы во многих участках дермы отмечено заметное изменение структуры волокон межклеточного матрикса. Интенсивность автофлуоресценции отдельных коллагеновых волокон в дерме могла быть как повышенной (60–65 фут-кандел), так и сниженной (менее 30 фут-кандел). Волокна с уровнем автофлуоресценции выше 60 фут-кандел (признак выраженного повреждения коллагена) встречались как на поверхности раны, так и в более глубоких слоях, в том числе в сетчатом слое дермы рядом с подкожно-жировой клетчаткой. Волокна со сниженным уровнем автофлуоресценции имели характерный отечный вид и выявлялись по всей глубине дермы в области дна раны (**рис. 1**).

У всех обследованных животных отмечена интенсивная инфильтрация дна раны и краевой части раны клетками воспаления, при этом воспалительный инфильтрат имел смешанный состав. Интенсивная инфильтрация отмечалась также в подлежащих тканях. В опытных группах повреждение межклеточных волокон дермы было выражено слабее, чем в контроле. Волокна с уровнем автофлуоресценции выше 60 фут-кандел выявлялись лишь на поверхности раны или вообще не выявлялись, число отечных волокон было также более низким, по сравнению с контролем (**рис. 1**). У 4 животных из 5 в группе лечения повязкой с не-

стабилизированными тромбоцитами (1-я группа) уровень инфильтрации клетками воспаления был невысоким как в дерме, так и в подлежащих тканях, отмечалась выраженная миграция гистиоцитов, полнокровие сосудов. Отмечены как рост краевого эпителия, так и участки островковой эпителизации из волосяных фолликулов (**рис. 2**).

У животных в группе лечения повязкой со стабилизированными тромбоцитами отмечена высокая инфильтрация подлежащих тканей клетками воспаления, миграция макрофагов (**рис. 2, Б**) менее выражена, чем у животных 1-й группы. Также как и в 1-й группе отмечена интенсивная миграция эпителиальных клеток из волосяных фолликулов в сторону поверхности раны. При микроскопическом исследовании можно было видеть большое количество фибробластоподобных клеток со слабо компактизированным хроматином (признак активных ядер), расположенных в подлежащих тканях, а также в самой дерме. Таким образом, через 3 сут в опытных группах репаративные процессы происходили активнее по сравнению с контролем.

Через 5 сут отмечали полное в опытных группах и частичное в контрольной группе восстановление эпителиального покрова. При гистологическом исследовании в контрольной группе значительная область раны была покрыта однорядным неэпителием, локально наблюдалось формирование многорядного эпителиального слоя (**рис. 3, а**). В опытных группах эпителий на большей площади содержал 2–3 слоя клеток с крупными светлыми ядрами, (**рис. 3, б, в**), что указывает на низкую компактизацию хроматина и его активность. Стоит отметить, что в обеих опытных группах выявлялись участки, где эпидермис был рыхло связан с подлежащими тканями и легко травмировался. Инфильтрация клетками воспаления была неравномерной – во всех группах в области дна раны можно было выявить зоны как с низким, так и с высоким уровнем инфильтрации (**рис. 3, рис. 4, а, в, д**). Как и на 3-и сут, воспалительный инфильтрат имел смешанный клеточный состав. В обеих группах в дерме отмечалась высокая миграционная активность фибробластов.

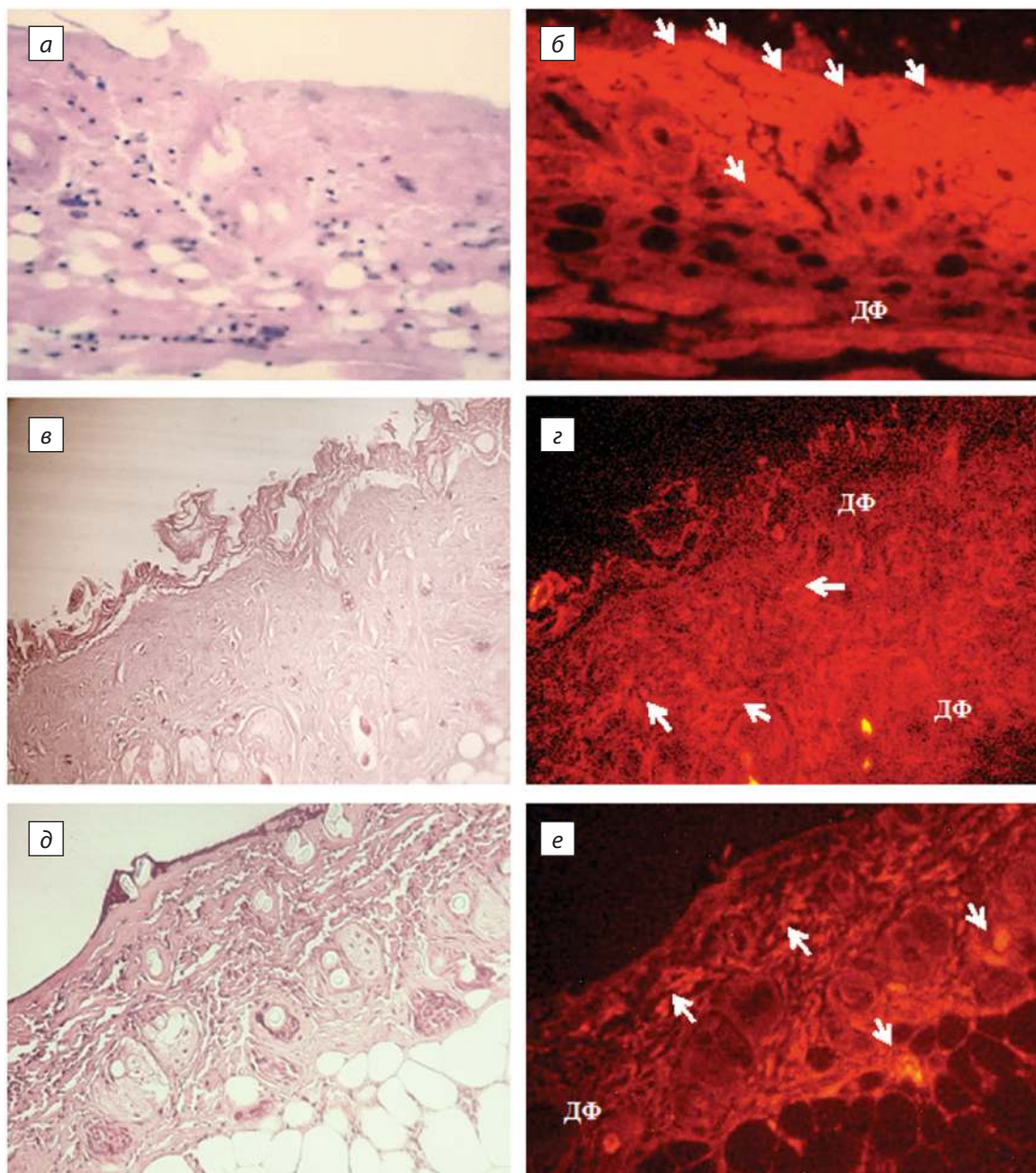
У животных контрольной группы доля поврежденных волокон в дерме заметно снижалась, при этом многие волокна сохраняли отечность и были декомпактизированы, особенно в глубоких слоях дермы (**рис. 4, а, б**).

Топография большинства волокон соответствовала норме, однако по всей глубине раны выявлялись волокна с интенсивностью автофлуоресценции ниже 30 фут-кандел, что указывает на их незрелость. Вместе с тем, в обеих группах в дерме можно было видеть во-



локна с нормальной яркостью, которые не имели нормальной продольной ориентации и пересекали другие коллагеновые волокна. В группе лечения повязкой с нестабилизированными тромбоцитами волокна с поперечной ориентацией выявлялись как в сосочковом,

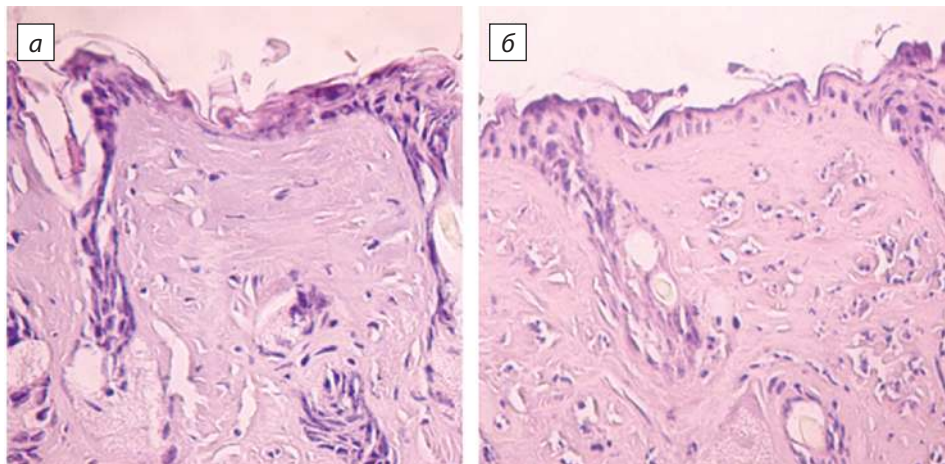
так и в сетчатом слое дермы (рис. 4, з). В группе, где использовались повязки со стабилизированными тромбоцитами, число поперечно ориентированных волокон было заметно ниже по сравнению с 1-й опытной группой. Как и на 3-и сут, в обеих группах можно бы-



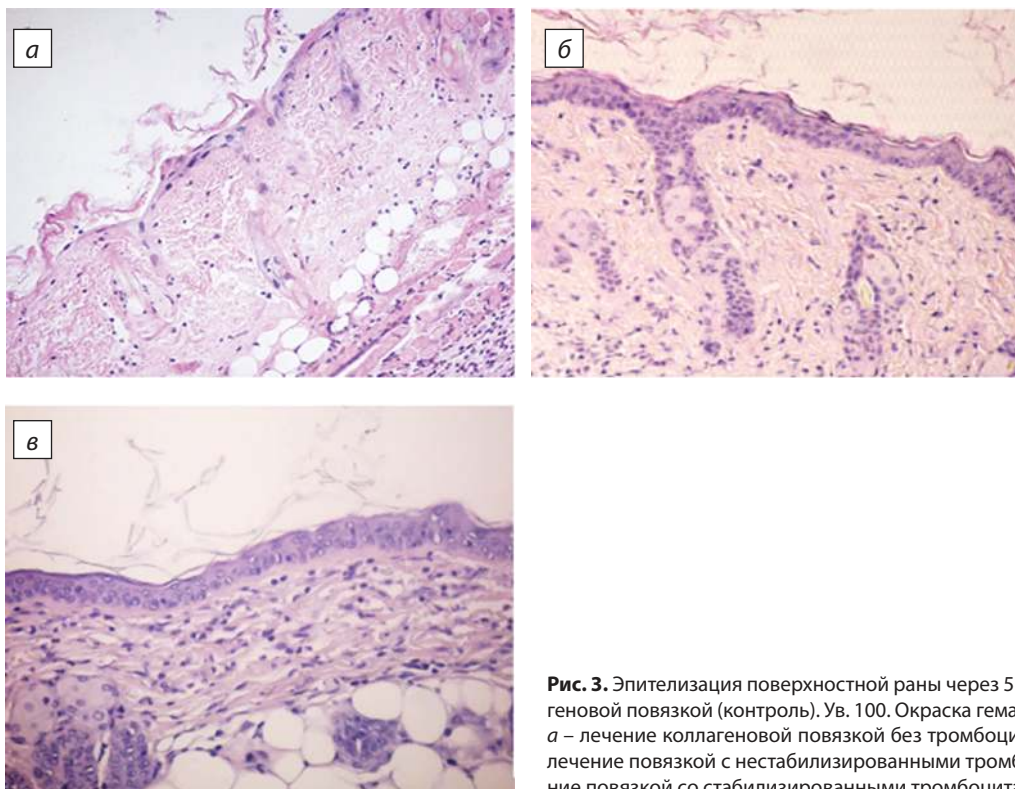
**Рис. 1.** Дно раны при лечении коллагеновой повязкой через 3 сут эксперимента. Ув. 100. Слева – окраска гематоксилином-эозином (а) и по Ван Гизону (в, д); справа – автофлуоресценция коллагеновых волокон. а, б – контроль (коллагеновая повязка без тромбоцитов); в, з – лечение повязкой с нестабилизированными тромбоцитами; д, е – лечение повязкой с тромбоцитами, предварительно стабилизированными 2,5 мкМ наносеребра. Стрелками показаны участки с яркостью коллагена выше 60 фут-кандел (химически деформированные волокна), ДФ – деконденсированные фибриллы (волокна с нарушенной компактизацией коллагена и отечные волокна)

ло выявить участки с отечными волокнами, однако в отличие от контроля, декомпактизированные волокна располагались только в сетчатом слое дермы (рис. 4, е). В целом, через 5 сут лечения топография коллагеновых волокон в опытных группах была заметно ближе к норме по сравнению с контролем, однако полно-

го восстановления коллагенового матрикса не наблюдалось. Можно заключить, что через 5 сут лечения в опытных группах репаративные процессы были более выраженными, чем в контроле. В то же время, процесс репарации не был полностью завершен, сохранялась локальная инфильтрация раны клетками воспаления.



**Рис. 2.** Миграция эпителиальных клеток на поверхность раны через 3 сут лечения коллагеновой повязкой с нестабилизированными (а) и стабилизированными тромбоцитами (б). Ув. 200. Окраска гематоксилин-эозином.

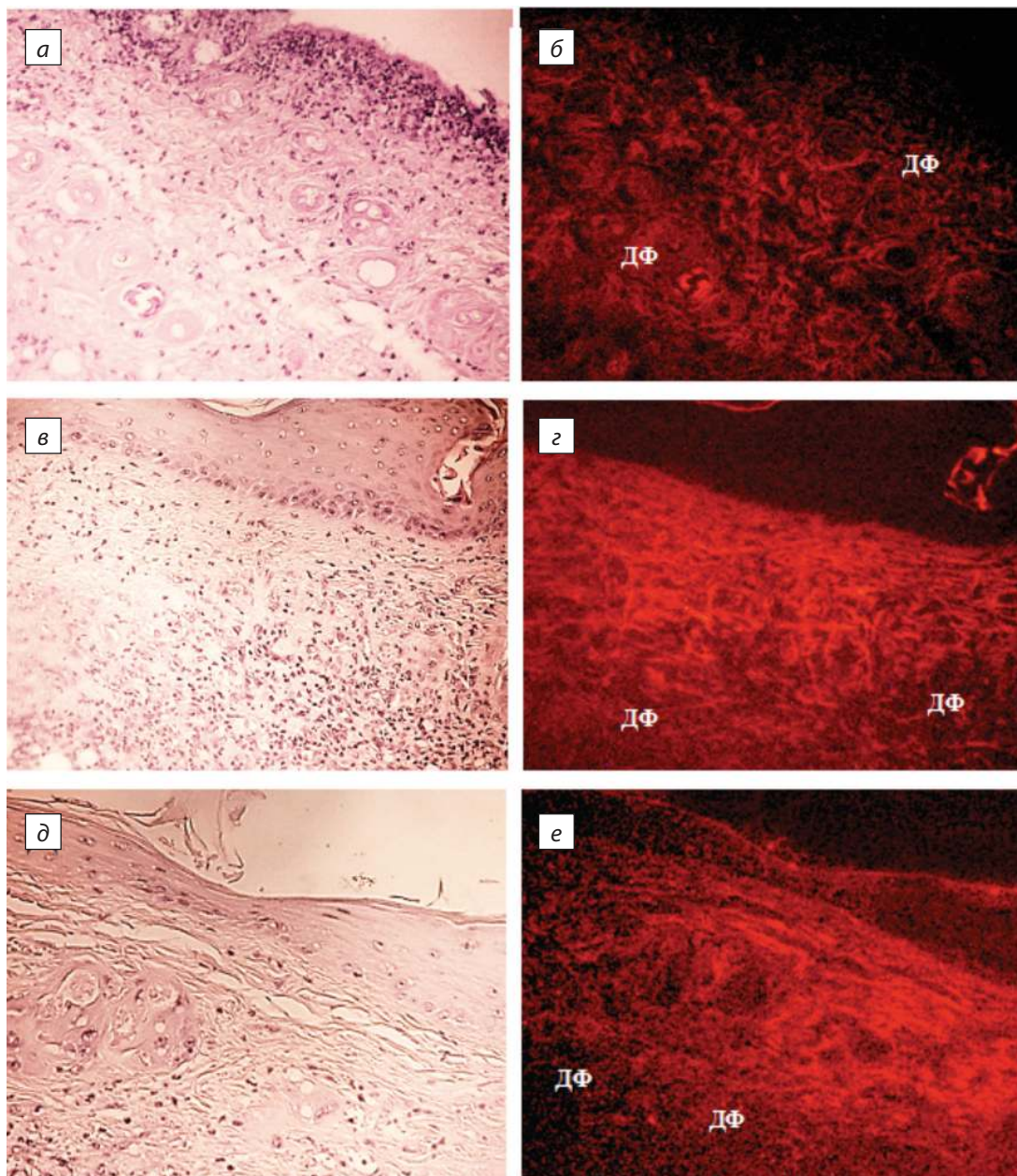


**Рис. 3.** Эпителизация поверхностной раны через 5 сут лечения коллагеновой повязкой (контроль). Ув. 100. Окраска гематоксилин-эозином. а – лечение коллагеновой повязкой без тромбоцитов (контроль); б – лечение повязкой с нестабилизированными тромбоцитами; в – лечение повязкой со стабилизированными тромбоцитами.

## Обсуждение

Идея использования тромбоцитов для ускорения регенерации тканей давно привлекает специалистов. Введение клеток в состав раневых покрытий позволя-

ет зафиксировать их в ране, не прибегая к инъекциям. При этом предпочтение отдают носителям, в составе которых присутствует коллаген [5, 6]. Это обусловлено тем, что коллаген способствует миграции клеток и используется ими в процессе восстановления повреж-



**Рис. 4.** Дно раны при лечении коллагеновой повязкой через 5 сут эксперимента. Ув. 100. Слева – окраска по Ван Гизону, справа – автофлуоресценция коллагеновых волокон. *a, б* – контроль (коллагеновая повязка без тромбоцитов); *в, з* – лечение повязкой с нестабилизированными тромбоцитами; *д, е* – лечение повязкой с тромбоцитами, предварительно стабилизированными 2,5 мкМ наносеребра. Стрелками показаны участки с яркостью коллагена выше 60 фут-кандел (химически деформированные волокна), ДФ – деконденсированные фибриллы (волокна с нарушенной компактизацией коллагена и отечные волокна).

денных тканей [2]. С другой стороны, коллаген является естественным активатором тромбоцитов, что обуславливает их дегрануляцию при адгезии, и повышает риск их потери. Предварительная стабилизация тромбоцитов наносеребром значительно сокращает выброс гранул при последующей адгезии, что, как мы ожидали, положительно отразится на клинической эффективности.

Проведенное нами исследование показало, что интенсивность эпителизации ран после поверхностных ожогов при применении коллагеновых раневых покрытий со стабилизированными или нестабилизированными тромбоцитами существенно не различалась между группами. При этом она значительно превосходила данные контрольной группы, в которой лечение проводили покрытием без клеток. Присутствие тромбоцитов в раневых покрытиях значительно увеличивало миграцию фибробластов в область раны, стимулировало краевой и островковый рост эпителия и восстановление волокон дермы. Это может быть обусловлено тем, что даже без стабилизации часть тромбоцитарных компонентов выделяется в составе цельных микровезикул, которые, как и сами тромбоциты, способны закрепляться на коллагене [8]. Следует также отметить, что применение стандартных методик окрашивания гистологических срезов не позволяет в полной мере оценить степень повреждения коллагеновых волокон. Используемый в нашей работе анализ автофлуоресценции волокон позволил детально оценить их топографию, а также структурную целостность. Такой подход представляется весьма перспективным как для исследования репаративных процессов в дерме, так и для гистологического исследования архитектуры коллагена в целом. С другой стороны, автофлуоресценция коллагена не отражает топографию других компонентов межклеточного матрикса, что следует учитывать при выборе методов оценки морфологических особенностей течения раневого процесса.

**Выводы:**

Использование коллагеновых повязок, насыщенных тромбоцитами, в лечении поверхностных ожогов сопровождается заметным ускорением пролиферативной и миграционной активности эпителиальных клеток и фибробластов в дерме, что приводит к сокращению сроков эпителизации ран.

Использование тромбоцитов в составе коллагеновых повязок ускоряет восстановление структуры коллагеновых волокон дермы и их трехмерной организации.

При оценке раневого процесса не выявлено значимых различий при использовании повязок с нативными или стабилизированными тромбоцитами.

Оценка автофлуоресценции коллагена позволяет оценить топографию коллагеновых волокон и их структурную целостность.

**Литература**

**(п.п. 1-4; 7; 8 см. References)**

5. Смирнов С.В., Жиркова Е.А., Сычевский М.В. Применение биотехнологий в лечении ожоговых ран: проблемы и перспективы (обзор литературы). *Неотложная медицинская помощь. Журнал им. Н.В. Склифосовского*. 2011; 1: 32-5.
6. Колокольчикова Е.Г., Жиркова Е.А., Головатенко-Абрамов П.К., Платонов Е.С., Бочарова В.С., Хватов В.Б. Морфофункциональная оценка влияния биологической повязки на основе коллагена I-го типа на регенерацию кожи после ожоговой травмы у мышей двух генетических линий. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2010; 1: 47-54.
9. Макаров М.С., Боровкова Н.В., Сторожева М.В. Морфофункциональные свойства тромбоцитов человека в условиях контакта с наночастицами серебра. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2017; 3: 148-54.
10. Макаров М.С., Сторожева М.В., Боровкова Н.В., Пономарев И.Н. Ростстимулирующие свойства тромбоцитов человека, стабилизированных наночастицами серебра. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018; 166 (8): 221-5.
11. Макаров М.С., Сторожева М.В., Боровкова Н.В. Значение автофлуоресценции коллагеновых волокон для оценки биологических свойств тканевых трансплантатов. *Современные технологии в медицине*. 2017; 9(2): 83–90.

**References**

1. Pastar I., Stojadinovic O., Yin N.C., Ramirez H., Nusbaum A.G., Sawaya A. et al. Epithelialization in wound healing: a comprehensive review. *Adv Wound Care*. 2014; 3:445–64.
2. Sheridan R., Tompkins R. Skin substitutes in burns. *Burns*. 1999; 25: 97–103.
3. Werner S, Krieg T, Smola H. Keratinocyte–fibroblast interactions in wound healing. *J Invest Dermatol*. 2007; 127: 998–1008.
4. Pham C., Greenwood J., Cleland H., Woodruff P., Maddern G. Bio-engineered skin substitutes for the management of burns: a systematic review. *Burns*. 2007; 33: 946–57.
5. Smirnov S.V., Zhirkova E.A., Sychevskij M.V. Biotechnologies in burn wound treatment: problem and perspectives (review). *Neotlozhnaya meditsinskaya pomoshch. Zhurnal im N.V. Sklifosovskogo*. 2011; 1: 32-5 (in Russian)
6. Kolokolchikova E.G., Zhirkova E.A., Golovatenko-Abramov P.K., Platonov E.S., Botcharova V.S., Khvatov V.B. Morphofunctional evaluation of the effect of collagen-I-based dressing on skin regeneration after burn trauma in mice of two genetic strains. *Byull Exp Biol Med*. 2010; 149(1): 154-60.
7. Nurden A.T., Nurden P., Sanchez M., Andia I., Anitua E. Platelets and wound healing. *Frontiers in Bioscience*. 2008; 13(9): 3532–48.
8. Golebiewska E.M., Poole A.W. Secrets of platelet exocytosis – what do we really know about platelet secretion mechanisms? *Br. J. Haematol*. 2014; 165(2): 204–16.
9. Makarov M.S., Borovkova N.V., Storozheva M.V. Morphofunctional properties of human platelets treated with silver nanoparticles. *Byull Exp Biol Med*. 2017; 164(2): 241-6.

10. Makarov M.S., Storozheva M.V., Borovkova N.V., Ponomarev I.N. Growth-stimulating effect of human platelets stabilized with silver nanoparticles. *Bull Exp Biol Med.* 2018; 166(2): 260- 3.
11. Makarov M.S., Storozheva M.V., Borovkova N.V. Collagen fiber auto-fluorescence level in evaluating the biological properties of tissue grafts. *Sovremennye tehnologii v medicine.* 2017; 9(2): 83–90 (in Russian)

**Сведения об авторах:**

**Боровкова Наталья Валерьевна**, доктор мед. наук, зав. отд-нием биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗ г. Москвы;

**Макаров Максим Сергеевич**, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., отд-ния биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗ г. Москвы;

**Пonomarev Иван Николаевич**, канд. мед. наук, науч. сотр. отд-ния биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗ г. Москвы;

**Андреев Юлий Вадимович**, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. отд-ния биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗ г. Москвы;

**Сторожева Майя Викторовна**, науч. сотр. отд-ния биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗ г. Москвы;

**Будаев Антон Аркадьевич**, науч. сотр. отд-ния биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗ г. Москвы.

## ОБЗОРЫ

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-036.22

**Козлов В.А., Сапожников С.П., Голенков А.В.**

# Эпидемиология амилоидоза (преобладание этиологического мышления)

ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова»,  
428015, Чебоксары, Россия, Московский проспект, д. 15

Амилоидоз – патологический процесс, вызванный различными средовыми и наследственными этиологическими факторами, развивающийся по собственным законам вне зависимости от первичных причин, его вызвавших. По этой причине систематизация сведений об эпидемиологии амилоидной болезни является трудной задачей по причине различий используемых методик статистического анализа, отсутствия единой, принятой во всем мире классификации этой патологии, различий учета этой патологии клиницистами и патологоанатомической службой. Несмотря на наличие классификации амилоидозов ВОЗ, основанной на патогенетическом принципе, статистический учет случаев амилоидоза проводится по отдельным нозологическим формам. Поэтому часть случаев амилоидоза проходит мимо статистического учета. В целом это создает неправильное впечатление, что амилоидоз встречается значительно реже, чем это есть на самом деле.

**Цель** исследования – анализ доступных данных литературы по эпидемиологии амилоидоза для приблизительной оценки реальной картины распространенности этого вида патологии.

**Результаты.** Проведен анализ данных литературы по эпидемиологии амилоидоза, болезни Альцгеймера, AL- и AA-амилоидозов, LECT2 амилоидоза, наследственных амилоидозов, фармакологического амилоидоза и амилоидоза, вызванного приемом наркотических средств. Проанализированы связи распространенности амилоидоза с возрастом и полом. Выявлены различия методов исследования эпидемиологии амилоидоза, приводящие к получению несопоставимых данных. Поскольку разные авторы не использовали единые методики оценки эпидемиологии амилоидоза, данные, полученные в одном и том же географическом районе, различаются иногда на порядок. Предложена к обсуждению собственная классификация амилоида по происхождению. Поскольку амилоидоз является не диагнозом, а патологическим процессом, предлагается отказаться от нозологического принципа статистического учета случаев амилоидоза в пользу патогенетической классификации ВОЗ.

**Заключение.** Единых сопоставимых сведений о распространенности и заболеваемости амилоидозом нет, по этой причине необходимо введение обязательного исследования материала биопсий и аутопсий на наличие амилоида с помощью окрашивания конго красным. Также необходимо создание цифрового национального реестра больных амилоидозом и разработка методов ранней прижизненной диагностики амилоидоза, возможно, на основе протеомного анализа плазмы крови.

**Ключевые слова:** эпидемиология; амилоидоз; связь с возрастом; этиологический диагноз; патогенетический диагноз; классификация

**Для цитирования:** Козлов В.А., Сапожников С.П., Голенков А.В. Эпидемиология амилоидоза (преобладание этиологического мышления). *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(2): 94-108.

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2021.02.94-108

**Для корреспонденции:** Козлов Вадим Авенурович, e-mail: pooh12@yandex.ru

**Участие авторов:** концепция исследования – Козлов В.А., Сапожников С.П., Голенков А.В., сбор и обработка материалов – Козлов В.А., Сапожников С.П., Голенков А.В., написание текста – Козлов В.А., Сапожников С.П., редактирование – Козлов В.А., Сапожников С.П., Голенков А.В.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 22.05.2020

Принята к печати 25.03.2021

Опубликована 30.06.2021

Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Golenkov A.V.

**Epidemiology of amyloidosis (prevalence of etiological thinking)**

I.N. Uljyanov Chuvash State University,  
Moskovsky Prospekt 5, Cheboksary 428015, Russian Federation

Amyloidosis is a pathological process caused by various environmental and hereditary etiological factors. It develops according to its own rules, regardless of the primary events that caused it. Systematization of information about amyloid disease epidemiology is a challenging task due to differences in the methods used for statistical analysis, the lack of a unified worldwide classification of this pathology, and differences in the description of this pathology by clinicians and pathologists. Despite a WHO classification of amyloidosis based on a pathogenetic principle, statistics on some amyloidosis cases are performed by individual nosological forms. Therefore, some amyloidosis cases are not included in statistical analyses. In general, this creates an incorrect impression that amyloidosis is much less common than it actually is.

**The aim** of this study is to analyze the available literature data on the epidemiology of amyloidosis in order to approximate the correct prevalence of this pathology.

**Results.** The published data on the epidemiology of amyloidosis, Alzheimer's disease, AL- and AA-amyloidoses, LECT2 amyloidosis, hereditary amyloidoses, pharmacological amyloidosis, and narcotic drug induced amyloidosis were analyzed. Also the relationship of amyloidosis with age and sex was taken into account. Differences were identified in research methods for the epidemiology of amyloidosis that led to incompatible data. Since different authors use different methods for assessing the epidemiology of amyloidosis, data obtained in the same geographical area sometimes differed by an order of magnitude. Own classification of amyloidosis by origin is proposed for discussion. Since amyloidosis is not a diagnosis, but a pathological process, it is proposed to abandon the nosological principle of statistical accounting of amyloidosis cases in favor of the WHO pathogenetic classification.

**Conclusion.** There are no uniformly comparable data on the prevalence and incidence of amyloidosis. For this reason, mandatory staining with Congo red of biopsy and autopsy material for the presence of amyloid is required. It is also necessary to create a digital national registry of patients with amyloidosis and to develop methods for early lifetime diagnosis of amyloidosis, possibly based on proteomic analysis of blood plasma.

**Keyword:** epidemiology; amyloidosis; relationship with age; etiological diagnosis; pathogenetic diagnosis; classification

**For citation:** Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Golenkov A.V. Epidemiology of amyloidosis (prevalence of etiological thinking). *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)* 2021; 65(2): 94-108. (in Russian)

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2021.02.94-108

**For correspondence:** **Vadim Kozlov**, doctor of biol. sci., cand. med. associate Professor of the medical biology Department with a course in microbiology and virology «I.N. Uljyanov Chuvash State University», e-mail: pooh12@yandex.ru

**Contribution:** the concept and design of the study – Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Golenkov A.V., collection and processing of materials – Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Golenkov A.V., writing a text – Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., editing – Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Golenkov A.V.

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare that there is no conflict of interest.

**Information about the authors:**

Kozlov V.A., <https://orcid.org/0000-0001-7488-1240>

Sapozhnikov S.P., <https://orcid.org/0000-0003-0967-7192>

Golenkov A.V., <https://orcid.org/0000-0002-3799-0736>

Received 22.05.2020

Accepted 25.03.2021

Published 30.06.2021

**Используемые аббревиатуры:**

AGel – амилоидоз, вызванный мутацией гельсолина

ALECT2 – амилоидоз, вызванный белком LECT2

ATTRwt – транстретиновый амилоидоз миокарда

LECT2 (leukocyte cell-derived chemotaxin-2) – хемотаксин-2, полученный из лейкоцитарных клеток

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ХБП – хроническая болезнь почек

## Введение

При систематизации сведений о заболеваемости амилоидозами мы столкнулись с рядом сложностей. Во многих работах отмечается, что данные о распространенности амилоидоза в разных странах недостаточно хорошо документированы. Например, в Англии в 1999 г. Национальная служба здравоохранения уполномочила Национальный центр амилоидоза (НАС) обеспечить учет всех пациентов с амилоидозом. Расчетная минимальная заболеваемость системным амилоидозом среди населения Англии в 2008 г., основанная на данных НАС, составила 0,4 : 100 000. Наибольшая заболеваемость отмечена у лиц в возрасте 60–79 лет. Наиболее распространенным типом с предполагаемой минимальной заболеваемостью, составляющей 0,3 : 100 000 населения был системный AL-амилоидоз. С учетом различных ограничений для данного исследования, авторы пришли к выводу что частота системного амилоидоза в Англии превышает 0,8 : 100 000 населения [1]. Но уже через 3 года в другой работе приводятся сведения, что заболеваемость амилоидозами в Великобритании составляет 20 : 1 000 000, то есть, она более чем в 2 раза выше, чем в предыдущем исследовании [2]. И это только по одной стране, в которой ведется учет больных амилоидозом! В то же время, глобальная заболеваемость амилоидозом оценивается в 5–9 случаев на миллион пациенто-лет [3]. Статистический показатель «пациенто-лет» рассчитывается как число больных × число лет наблюдения этих больных. Он используется в том случае, если наблюдаемых больных мало, тогда это просто количество больных, включенных, например, в когортное исследование группой исследователей, или попавших в некий реестр. Поэтому этот показатель не коррелирует с истинной заболеваемостью. Вместе с тем, он может отражать число осложнений или летальных исходов в данной когорте. При этом, как и в любом случае, когда наблюдений мало, расчетные показатели могут сильно отличаться от истинных. В результате мы имеем разную учитываемых статистических показателей, как-то: распространённость амилоидозов, заболеваемость амилоидозами и пациенто-годы. При этом под распространённостью понимается учет всех больных в популяции, а под заболеваемостью — число вновь диагностированных случаев, часто установленных постфактум на аутопсии.

Следующей сложностью является использование трудно сопоставимых классификаций. Так, в Российской Федерации Национальные клинические рекомендации «Диагностика и лечение AA-и AL-амилоидоза» определяют амилоидоз как группу заболеваний, от-

личительным признаком которых является отложение в тканях и органах фибриллярного гликопротеида амилоида [4], то есть, в основе классификации — морфологический принцип деления на группы по пораженным органам. Этому принципу соответствует классификация МКБ-10 (E85.0), в то время как классификация амилоидозов ВОЗ построена по патогенетическому принципу.

Классификации амилоидозов, как МКБ-10, так и ВОЗ, эклектичны и идеологически не совпадают с определением амилоидозов Национальных клинических рекомендаций. В МКБ-10 амилоидозы представлены как самостоятельные нозологические формы, а в классификации ВОЗ — как протеинопатии. Семантически эта классификация построена в виде: амилоидный белок → белок-предшественник амилоида → клиническая форма амилоидоза. Но, классификация ВОЗ никак не коррелирует с классификацией амилоидных белков в которой их присутствует более 30 [5], а в классификации ВОЗ их меньше.

Нозологическая нацеленность специалистов на выявление вида амилоидных отложений понятна, она позволяет определить тактику лечения (при AL-амилоидозе — это снижение продукции легких цепей иммуноглобулинов, при AA-амилоидозе — борьба с воспалительной реакцией и устранение её причины). Тем не менее, нередко комбинируемые виды амилоидозов и наследственные — первичные — формы, патогенез которых обусловлен наследуемыми мутациями генов белков-амилоидогенов, о чем свидетельствует ряд посвященных этому вопросу обзоров литературы [6–9]. Но кроме этих классификаций, до сих пор используются традиционные нозологические классификации, в которых форм амилоидоза больше, чем в МКБ-10. Поэтому, при чтении оригинальных статей, нередко нельзя понять какой классификацией пользовались авторы и что же они учитывали.

Таким образом, единства мнений о построении классификации амилоидозов нет. Соответственно, нет и единых критериев статистического учета этого вида патологии.

Сложности статистического учета, усугубленные применением несопоставимых классификаций, вызвали сомнение, что амилоидозы встречаются редко, только при узкой группе заболеваний (осложнение длительно протекающего хронического воспалительного или инфекционно-воспалительного процесса, или врожденная наследственная патология). Большое число людей с амилоидозом считается здоровыми до тех пор, пока генерализация процесса не проявит себя клинической симптоматикой. Исследования, про-



веденные в Швеции, определили, что предполагаемая средняя выживаемость составила 3 года для амилоидоза AL, 4 года для амилоидоза AA и 6 лет для локализованного амилоидоза [10], а медиана выживаемости для всех системных амилоидозов в Великобритании составила около 32 мес [1].

Но эти больные могли бы жить дольше, если бы амилоидный процесс был установлен на ранних этапах развития, когда еще не произошло необратимых изменений органов. Поэтому интуитивно понятно, что, если амилоидная патология долго протекает бессимптомно, а выявляется как правило при появлении клинически выраженных осложнений в виде почечной, печеночной, легочной или сердечной недостаточности, или деменции, или выявляется посмертно, — число больных должно быть значительно большим, чем статистически учтенных. При этом смертность от амилоидоза растет. Например, в США анализ 57 355 случаев смерти в период с 1979 по 2015 г., основной причиной которой был установлен амилоидоз, позволил сделать вывод, что общая средняя скорректированная по возрасту смертность от амилоидоза как основной причины смерти удвоилась с 1,77 до 3,96 : 1 000 000 населения (2,32–5,43 у мужчин и 1,35–2,80 у женщин). Самый высокий уровень смертности был отмечен среди мужчин афроамериканцев (12,36 : 1 000 000), за ними следовали афроамериканские женщины (6,48 : 1 000 000). В некоторых штатах показатель смертности с поправкой на возраст достигал 31,73 : 1 000 000 человек [11]. Истинное ли это увеличение смертности по причине амилоидоза, или это результат улучшенной посмертной диагностики авторы не указывают.

Актуальность прижизненного выявления больных с амилоидозом до появления осложнений этой патологии увеличивается тем, что в некоторых случаях амилоидный процесс, возможно, провоцирует развитие других заболеваний. Так, в когортном исследовании 1693 пациентов с амилоидозом без сопутствующей онкопатологии со средним сроком наблюдения 5,63 года у 68 человек развился рак почки и гематологические злокачественные новообразования. Частота онкопатологии у пациентов с амилоидозом была статистически значимо выше, чем в популяции [12]. Аналогичные данные получены в результате 1155 биопсий почек в период с 2003 по 2017 г. У пациентов с амилоидозом онкопатология наблюдалась почти в 28 раз чаще, чем ожидалось, и у этих пациентов встречаемость онкопатологии (разные формы рака) была выше, чем у пациентов с неамилоидными гломерулопатиями. Заболеваемость раком была в три раза выше у больных старше 50 лет по сравнению с общей популяцией. Ав-

торы пришли к заключению, что пациенты с гломерулопатией, особенно с амилоидозом, имеют более высокий риск развития рака, чем общая популяция [13].

Есть данные, что амилоидные заболевания могут быть связаны с потенциально опасным для жизни кровоизлиянием. Патогенетические факторы, способствующие тенденции аномального кровотечения в этой ситуации, неоднородны и зависят от типа амилоидоза и характера поражения органов. У пациентов с амилоидозом легких цепей (AL) приобретенные нарушения гемостаза, включая дефицит фактора свертывания крови, гиперфибринолиз и дисфункцию тромбоцитов, могут рассматриваться как наиболее важные патогенетические факторы [14]. С другой стороны, амилоид, например, является гистопатологическим признаком болезни Альцгеймера и сахарного диабета 2 типа, но то, что амилоид вызывает эти заболевания не установлено [15].

В то же время, у научного сообщества разных стран просматривается интерес к проблеме амилоидоза. Практическим результатом этого интереса явились рекомендации по созданию единых реестров амилоидных больных в Британии, Франции, некоторых штатах США, к формированию которых приступили в начале 2000-х годов.

**Цель исследования** — анализ данных доступной литературы по эпидемиологии амилоидоза для приблизительной оценки реальной картины распространенности этой патологии.

**AA-амилоидоз (вторичный).** Заболеваемость AA-амилоидозом примерно 2 : 1 000 000 человек в год, обычный возраст начала развития составляет от 55 до 60 лет [16]. Причинами возникновения AA-амилоидоза являются разнообразные, хронические воспалительные заболевания суставов, преимущественно ревматоидный артрит, остеомиелит, бронхоэктатическая болезнь, малярия, туберкулез, лепра, сифилис. Амилоидные отложения при AA-амилоидозе состоят в основном из сывороточного белка амилоида А (SAA), который синтезируется гепатоцитами в качестве предшественника в ответ на стимулы транскрипции различных провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин (IL) -1, IL-6 и альфа фактора некроза опухоли (TNF) [17]. В 19% биопсийного материала подкожного абдоминального жира, слизистой двенадцатиперстной кишки или малой слюнной железы пациентов института ревматологии за период с 1991 по 2001 г. был обнаружен амилоид [18]. При биопсии почки у больных с ревматоидным артритом, проведенных в Японии в 1989–1996 г. амилоид был обнаружен в 19% образцов [19].

Между тем, структура заболеваемости АА-амилоидозом в последние десятилетия изменилась по причине увеличения среднего возраста при постановке диагноза, относительного увеличения частоты первичного AL-амилоидоза по отношению к АА-типу, существенного изменения эпидемиологии основных заболеваний, заканчивающихся амилоидозом [3]. При вроде бы низких цифрах заболеваемости в развитых странах от амилоидоза умирает около 1 на 1000 человек в год [15]. Без лечения продолжительность жизни составляет от 6 мес до 4 лет [16]. Инфекционная патология была наиболее распространенной причиной АА-амилоидоза в 1990-е г. В 2000-е г. наиболее распространенной причиной стало хроническое воспаление. Но, общая заболеваемость почечным амилоидозом за этот период практически не изменилась, преобладающей причиной почечного амилоидоза в период с 1990-х по 2000-е гг. были хронические воспалительные заболевания [20].

Невероятно, но факт, программы по выявлению лиц с хронической болезнью почек (ХБП) проводятся всего лишь в 24% всех стран. В то время как ХБП вне зависимости от нозологии является едва ли не одной из основных причин развития вторичного амилоидоза. Распространенность заболеваний почек в Южной Азии – 8%, Африке и Северной Америке до 11%, Европе, Средней и Восточной Азии и Латинской Америке – 12%, Саудовской Аравии и Бельгии – 24%, Польше – 18%, Германии – 17%, Великобритании и Сингапуре – 16% [21]. Анализ 36 публикаций, охватывающих результаты биопсий почек, проведенных в 22 арабских странах, выявил, что амилоидоз почек встречается у 10 (19%) больных с первичным заболеванием почек [22]. Если сопоставить эти данные, получается очень неприятная картина – большое число амилоидозов, связанных с ХБП, просто не учитываются патологоанатомическими службами 76% стран!

Туберкулез также является очень распространенной патологией, осложняющейся амилоидозом, средняя заболеваемость по миру в 2018 г. составила 132 : 100 000 [23]. При этом в базе pubmed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) нам удалось найти всего 2 статьи о распространенности амилоидоза, связанного с туберкулезом. У 40 обследованных больных туберкулезом легких с сопутствующей патологией почек в 90% случаев выявлен амилоидоз АА типа [24]. При туберкулезном лимфадените у жителей Индии амилоидоз диагностирован у 8,7%, из них 77,8% пациентов женского пола [25].

У больных с пневмонией или муковисцидозом в легочной мокроте был локализован ряд штаммов бак-

терий: *Lactobacillus* VT-16-957 sp. nov., *Acinetobacter* VT-16-958 sp. nov., *Chryseobacterium* VT-16-960 sp. nov., *Paenibacillus* VT-16-972 sp. nov., *Stenotrophomonas* VT-16-974 sp. nov., *Stenotrophomonas maltophilia* VT-16-590, *Proteus* VT-16-970 sp. nov., *Streptococcus* VT-16-975 sp. nov., *Streptococcus oralis/mitis* VT-690, *Pseudomonas aeruginosa* VT-16-973, VT-16-974, VT-16-975, VT-16-976, VT-16-977, VT-16-881, VT-16-882, *Klebsiella pneumoniae* VT-16-981, VT-16-982, VT-16-983, VT-16-984, VT-16-985, VT-16-791, VT-16-972, VT-16-973, *Escherichia coli* VT-16-990, VT-16-991, VT-16-992, VT-16-993, VT-490, VT-16-491, *Proteus mirabilis* VT-16-690, – среди которых целенаправленно искали штаммы -- продуценты амилоида. Двадцать штаммов, выделенных от больных муковисцидозом, продуцировали амилоид в больших количествах. Двадцать процентов штаммов, выделенных от больных пневмонией, амилоид продуцировали в умеренных количествах [26]. Несмотря на то, что прямых доказательств продукции амилоида микобактериями туберкулеза и лейшманиями нет, штаммы микобактерий туберкулеза и культуры лейшманий используются для моделирования системного амилоидоза в эксперименте [27].

**LECT2 Амилоидоз.** К возрастным системным амилоидозам примыкает недавно обнаруженный ALECT2 – амилоидоз, вызываемый хемотаксином-2 лейкоцитов у людей в возрасте 40-70 лет (средний возраст 67 лет) [28]. Данный вид системного амилоидоза, чаще поражающего почки, в основном распространен в США, в меньшей степени в азиатском регионе [29]. У почечных больных Египта он обнаруживался в 31% случаев биопсий [30]. При целенаправленном поиске ALECT2 был выявлен в 3,1% из 971 случаев патологоанатомического исследования умерших латиноамериканцев старше 45. У белого населения он был обнаружен в 0,1% случаев и у коренных жителей индейцев – у 0,7%. Авторы указывают, что распространенность ALECT2 неизвестна, и это, вероятно, недооцененная этиология почечной недостаточности на юго-западе США поскольку хроническое заболевание почек обычно не является показанием для диагностической биопсии [31].

Из приведенных сведений следует вывод, что LECT2 амилоидоз, частота которого расценивается как третья после AL- и АА-амилоидоза, до недавнего времени не диагностировался и не учитывался как причина смерти.

**Наследственные амилоидозы.** Одной из форм наследственных амилоидозов является ATTRV30M амилоидоз или семейная амилоидная полинейропатия типа I (португальско-шведский-японский тип), или TTR

амилоидная невропатия, или транстиретиновая амилоидная невропатия. Метаанализ 542 случаев АТТТВ30М в обзорах литературы с 2005 по 2016 год, выявил, что ~18% случаев зарегистрированы в Португалии, Японии и Швеции). Доля совокупного вклада Японии (92 случая), Китая (71 случай), Тайваня и Южной Корея составила 37,0%. Выборка представлена 65-ю генотипами, среди которых преобладали Вал30Мет (47,6%), Сер77Тир (10%), Ала97Сер (6,5%) и Фен64Лей (4,4%). Возраст манифестации сильно зависел от генотипа. При генотипе Фен64Лей средний возраст манифестации 67,5 лет, а средний возраст установления диагноза – 71,3. При остальных трех генотипах средний возраст манифестации 49,2 лет, а возраст установления диагноза – 53,4 [32]. Вероятная распространенность оценивается в 38000 больных [33].

Распространенность (число зарегистрированных заболеваний, как вновь возникших, так и ранее существовавших, по поводу которых были первичные обращения в календарном году) и частота (заболеваемость – число заболеваний, впервые зарегистрированных за календарный год среди населения, проживающего на какой-то конкретной территории) нейропатии АТТТВ30М на Кипре составляют 54 : 1000000 и 3 : 1000000 соответственно [34]. В Швеции заболеваемость не-невропатической формой семейной амилоидопатической полинейропатией составляет 2,83 : 1000000. САП в Швеции появился в результате иммиграции большей частью из Восточного Средиземноморья [35]. По патогенезу данная форма амилоидоза является следствием мутации в гене ТТТ, то есть, представляет собой транстиретиновую амилоидную полинейропатию.

В Португалии за период 2010-2016 гг. средние показатели заболеваемости АТТТВ30М составили 8,7 : 1000000. Оцененная в 2016 году распространенность составила 229,3 : 1000000 взрослых жителей (45,8% мужчин; средний возраст: 52,3 ± 15,4 года) и составила рост распространенности на 16% за последние 25 лет [36].

Финская гельсолиновая глаукома (AGel) – аутосомно-доминантная патология, вызванная мутацией, в результате которой происходит замена аспарагина в 187 положении в белке гельсолине, сопровождается ранней глаукомой (ОММ # 105120, расположение 9q33.2). Несмотря на название, эта патология встречается во всем мире [37]. Исходя из названия можно думать о локальном типе амилоидоза, что также неверно, поскольку основной причиной смерти этих людей является хроническая почечная недостаточность, вызванная амилоидозом почек [38]. В Национальном регистре

больных амилоидозом AGel Финляндии на 2016 г. зарегистрировано 227 пациентов – 156 женщин и 71 мужчина. У женщин диагноз впервые установлен в 39 лет, у мужчин – в 49 [39].

Периодическая болезнь (или армянская болезнь, или наследственный семейный амилоидоз без невропатии, или средиземноморская семейная лихорадка, иные названия: пароксизмальный синдром Джэйну-эя–Мозенталя, периодический перитонит, синдром Рейманна, болезнь Сигала–Маму) – встречается как аутосомно-рецессивный, так и аутосомно-доминантный варианты (ОММ # 249100, # 134610, расположение 16p13.3). Данная патология по своему течению сопоставима с лихорадкой шарпеев, у которых за первым лихорадочным эпизодом следует развитие амилоидоза [40]. Аналогично финской семейной глаукоме распространенность этого вида патологии гораздо шире, чем это следует из топонима в названии. У людей манифестация этого амилоидоза также начинается с лихорадочного эпизода, который часто впервые может начаться в 12,5 лет. Распространенность этой патологии в популяции армян считается высокой без указания количественных показателей [41]. Вызывающих доверие сведений о заболеваемости и распространенности данной патологии найти не удалось.

**Фармакологический амилоидоз.** В настоящее время номенклатура амилоидозов содержит сведения о 41 белке-предшественнике амилоида, к которым, в частности, относятся инсулин, казеин и альбумин [5], применяемые в клинической практике для парентерального введения. По крайней мере, в отношении инсулина [42] и энфувиртида [43] показано, что после парентерального введения может образовываться амилоид. Локальный амилоидоз на месте инъекций инсулина обнаруживается как случайная находка [44] и может быть контролируем с помощью ультразвукографии [45]. Образование локального амилоидоза в местах инъекций часто ошибочно расценивается как локальное нарушение обмена липидов в липоцитах [46]. Считается, что это осложнение инсулинотерапии встречается редко, однако достоверных статистических данных о частоте этого осложнения, как и о частоте амилоидоза, вызванного введением энфувиртида мы не нашли.

**Амилоидоз и наркомания.** АА-амилоидоз у наркоманов – новая, неизвестная ранее научной общественности проблема. Причиной этой формы амилоидоза являются гнойно-септические осложнения при употреблении инъекционных, в основном внутривенных, наркотиков, вызванных несоблюдением асептики наркоманами. Распространенность АА-амилоидоза у лиц,

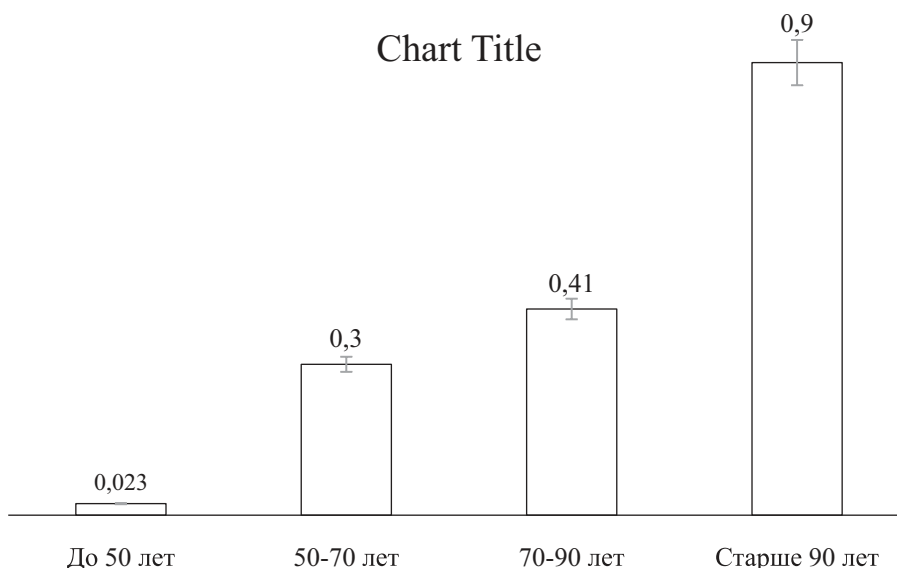
употребляющих инъекционные наркотики, не установлена [47]. Но, при анализе 37 публикаций из различных стран АА-амилоидоз был выявлен у 177 из 781 пациентов, употреблявших внутривенно наркотики. Нетрудно посчитать, что частота встречаемости амилоидоза в этой когорте составит 226,6 : 1000! [48], что аномально много. При сравнении 2 групп лиц с установленным диагнозом амилоидоза (не употреблявших героин и употреблявших героин в прошлом или настоящем любым способом) с кожными абсцессами у 87% наркоманов, признаками саркопении у 76% и дистрофии кожи у 27%, после статистического выравнивая групп по возрасту, расе, полу, месту и году проведения биопсии почек, относительный риск развития АА амилоидоза почек был в 170 раз выше у наркоманов ( $p = 0,001$ ) [49]. У 12 из 24 обследованных «внутривенных» наркоманов причиной почечной недостаточности был АА-амилоидоз [50]. Таким образом, в когорте внутривенных потребителей наркотиков амилоидоз встречается многократно чаще, чем в популяции, но насколько чаще – неизвестно.

**Амилоидоз и пол.** Первичный системный амилоидоз встречается у лиц обоих полов при соотношении мужчин и женщин 2 : 1 и пиковых проявлениях в возрасте от 60 до 67 лет [51]. Распространенность амилоидоза в Корее составила 9,3 : 1000000 человек в 2006 году и 19,1 : 1000000 человек в 2015 году. За изучаемый период отмечен рост этой патологии как у мужчин, так и у женщин в возрасте 65 лет и старше и у пациентов

в возрасте 45–64 лет по сравнению с возрастом от 20 до 44 лет [52].

**Амилоидоз и возраст.** Поскольку амилоидоз длительно протекающая системная болезнь накопления, то с возрастом должно происходить увеличение числа случаев амилоидоза в возрастных когортах. Так, судя по данным литературы, у лиц, достигших преклонного возраста (старше 70 лет), основной причиной сердечной патологии становится транстиретиновый амилоидоз миокарда (ATTRwt – association transthyretin wild-type amyloidosis – амилоидоз, вызванный немутантным, «диким» транстиретином). В зависимости от изучаемой популяции средний возраст начала ATTRwt составляет 65–70 лет, [53]. При аутопсии у 10-25% людей старше 80 лет выявляется амилоидоз, производный от ATTRwt, который, возможно, является причиной смерти 50% людей старше 90 лет [54]. Так, при двадцатилетнем проспективном наблюдении 121 пациента с ATTRwt (средний возраст при включении в исследование – 75,6 лет, D 62,6÷87,8 лет) 5-летняя выживаемость составила 35,7%, а причиной смерти являлась ХСН, вызванная ATTRwt [55]. Увеличение частоты амилоидного поражения миокарда с возрастом резко увеличивается (**рис. 1**).

Таким образом, ATTRwt признается важной причиной сердечной недостаточности [56], а большинство авторов, занятых проблемой ATTRwt, приходят к выводу, что ATTRwt является недооцененной причиной заболеваемости и смертности среди стареющего населения.



**Рис. 1.** Частота встречаемости амилоидоза миокарда (%) в зависимости от возраста. График построен по данным Л.В. Козловской и др. [58].

Следует заметить, что транстиретиновый амилоидоз является следствием ряда мутаций (не всех) в гене транстирретина и чаще встречается при периферической сенсомоторной невропатии, чем при возрастной патологии миокарда [57].

Эти данные подтверждаются результатами исследования 2012 в США. Было зарегистрировано 15 737 случаев амилоидоза миокарда. А в период с 2000 по 2012 г. наблюдался значительный рост показателя распространенности (с 80 до 170 на 1 000 000 человеко-лет) и показателя заболеваемости (с 180 до 550 на 1 000 000 человеко-лет), наиболее заметный после 2006 г. Заболеваемость и распространенность значительно возросли среди мужчин, пожилых людей и афроамериканцев. Авторы пришли к выводу, что частота и распространенность сердечного амилоидоза выше, чем считалось ранее и связали это с улучшением осведомленности об амилоидозе и диагностической настороженности. Авторы рекомендуют целенаправленный поиск амилоидоза миокарда при первичном обращении пациентов  $\geq 65$  лет, госпитализированных с сердечной недостаточностью [59].

В обзоре литературы за период 2005 по 2016 г. описано 542 случая симптоматической наследственной транстиретиин-амилоидной полинейропатии (ATTR-PN). Приблизительно 18% случаев были из стран, где ATTR-PN традиционно считается эндемическим (Португалия, Япония и Швеция). Установлено, что наиболее распространенными генотипами среди 65 генотипов, представленных в выборке, были Val30Met (47,6%), Ser77Tyr (10%), Ala97Ser (6,5%) и Phe64Leu (4,4%) [32]. Оценочная распространенность в мире может составлять 38000 больных [33].

Распространенность и заболеваемость нейропатии ATTRV30M на Кипре составляют 54 : 1000000 и 3 : 1000000 соответственно [34]. Оценка всех случаев наследственного амилоидоза в Швеции за 2001–2008 гг. позволила выявить невропатические и не невропатические формы. Не невропатическое заболевание было диагностировано у 210 пациентов с частотой 2,83 на млн, а семейная амилоидотическая полинейропатия (FAP) была диагностирована у 221 пациента, с частотой 2,02 на млн [35]. По патогенезу данная форма амилоидоза является следствием мутации в гене TTR, то есть, представляет собой транстиретиновую амилоидную полинейропатию. В Португалии за период 2010-2016 гг. средние показатели заболеваемости ATTRV30M составили 8,7 : 1 000 000. Оцененная в 2016 г. распространенность составила 229,3 : 1 000 000 взрослых жителей (45,8% мужчин; средний возраст:  $52,3 \pm 15,4$  года) и составил рост распространенности на 16% за последние 25 лет [36].

Таким образом, наследственная транстиретиин-амилоидная полинейропатия (ATTR-PN) встречается по всему миру при оценочной распространенности 38 000 [33] с максимальной заболеваемостью в эндемических регионах, где доминирующей мутацией является Val30Met. Серьезной проблемой пожилых людей является спорадическая форма старческого (сенильного) системного амилоидоза, причиной развития которого являются транстиретиин дикого типа (ATTRwt). Его обнаруживают 25% людей старше 80 лет [54] и у 90% старше 90 лет [58].

Другим наиболее часто встречающимся осложнением возраста является протеинурия, чаще всего связанная с гломерулопатиями. На материале биопсии и клинических данных 352 пациентов-поляков с протеинурией в возрасте  $\geq 65$  лет амилоидоз почек обнаружен у 13,9% [60]. При ретроспективном анализе 36 публикаций, содержащих материал 10 727 диагностических биопсий почек по поводу протеинурии амилоидоз обнаружен в 10,19% случаев [22]. Амилоидоз семенных пузырьков в материале аденомы простаты выявлен в 4,8% случаев, средний возраст пациентов-турков составил 66,2 года. При этом отложения амилоида не были обнаружены в кровеносных сосудах в семенных пузырьках или паренхиме предстательной железы [61].

**Болезнь Альцгеймера.** Однозначно не установлено, является ли причиной болезни Альцгеймера сопутствующий этой патологии амилоидоз головного мозга. Тем не менее, амилоидное поражение головного мозга при болезни Альцгеймера и деменциях альцгеймеровского типа как правило обнаруживается. Тем не менее, считается, что достоверные эпидемиологические данные по болезни Альцгеймера немногочисленны [62].

В США распространенность деменции в группе лиц 71 года и старше составила в 2002 г. 13,9% — ~3,4 млн человек. Соответствующие значения для болезни Альцгеймера составили 9,7% и 2,4 млн человек [63]. Поскольку численность населения США в 2002 году составляла 288,37 млн, расчетная заболеваемость болезнью Альцгеймера — 8322,641 : 1 000 000 чел. Метаанализ распространенности болезни Альцгеймера среди африканского и кавказского населения в США показал, что расчетная распространенность болезни Альцгеймера для обеих групп в совокупности составила 8,3% [64]. Авторы, основываясь на данных Бюро переписи населения США (<http://www.census.gov/population/projections/data/national/2014/summarytables.html>), предполагая что население США 65-летнего возраста и старше к 2060 г. увеличится более чем вдвое, прогнозируют увеличение нагрузки на общественное здравоохранение США за счет увеличения числа больных

с болезнью Альцгеймера. Во Франции предполагаемая распространенность болезни Альцгеймера среди населения старше 65 лет в 2010–2011 г. составила 6,3% [62]. Из анализа исследований распространенности болезни Альцгеймера в Китае в период с 2001 по 2017 г. был сделан вывод, что она составляет 4% и увеличивается с возрастом [65].

**AL-амилоидоз или плазмноклеточная дискразия.** Различают первичный системный амилоидоз (AL), множественную миелому (MM), макроглобулинемию Вальденстрема (WM), моноклональную гаммапатию неопределенного характера (MGUS) [6]. AL-амилоидоз развивается в результате внеклеточного отложения фибрилл из моноклональных аномальных легких цепей иммуноглобулинов, секретируемых клоном плазматических клеток. Примерно 10% пациентов с множественной миеломой имеют амилоидоз. По данным Исследовательского фонда множественной миеломы (2002), в Соединенных Штатах насчитывается около 45 000 человек, живущих с множественной миеломой, и каждый год диагностируется примерно 14 600 новых случаев заболевания. С 1991 по 1995 г. статистические данные свидетельствуют о сокращении числа случаев смерти от большинства видов рака. Множественная миелома является одним из 3 видов онкологии, увеличивающих смертность как мужчин – 5,6%, так и женщин – 3,6% [51]. Высокий вклад в частоту встречаемости всех случаев гаммапатий вносит олигосекреторная MGUS. Установлено, что доля MGUS без миеломы составляет 95%. В общей популяции MGUS выявляется у 3% людей к 50 годам и у 5% – к 70-ти. MGUS может являться причиной развития хронического гломерулонефрита, болезней депозиции моноклональных иммуноглобулинов или иммуновоспалительных процессов с поражением периферической нервной системы, сердца, кожи и других органов [66].

При системном AL-амилоидозе в патологический процесс могут быть вовлечены все органы, кроме центральной нервной системы [67]. AL-амилоидоз встречается в 5–10 раз реже, чем множественная миелома, тем не менее, в западных странах остается наиболее распространенным типом системного амилоидоза. Считается, что иммуноглобулиновый амилоидоз легких цепей (AL) является самым распространенным (заболеваемость 9–10 : 1 000 000 в год) и наиболее тяжелым, поскольку он часто поражает сердце [68]. Эти данные согласуются с другим исследованием, в котором сопоставлена заболеваемость AA- и AL-амилоидозом. Так заболеваемость AA-амилоидозом составила примерно 2 : 1 000 000 человек в год, тогда как заболеваемость AL-амилоидозом менялась в пре-

делах 3–13 : 1 000 000 человек в год, обычный возраст начала этих двух типов составляет от 55 до 60 лет [16]. В другом исследовании также подчеркивается, что AL-амилоидоз встречается чаще других типов амилоидоза : так на его долю в Великобритании приходится 65%, а в Китае 93% пациентов с диагнозом амилоидоз. Предрасположенность к развитию AL амилоидоза в Китае возможно выше у мужчин, чем у женщин, по сравнению с западными странами (2 : 1 против 1,3 : 1). Как на Востоке, так и на Западе заболеваемость увеличивается с возрастом [2].

При ретроспективном изучении данных пациентов с почечной недостаточностью, проходивших лечение за период с 1 января 1992 г. по 30 июня 1997 г. (375 152 пациента) в больницах США множественная миелома наблюдалась у 3298 пациентов, что составило 0,88%. Двухлетняя смертность от всех причин у пациентов с множественной миеломой в течение периода исследования составила 58% против 31% у всех других пациентов ( $p < 0,01$  по критерию логарифмического ранга) [69]. По другим данным, заболеваемость AL-амилоидозом в популяциях, по-видимому, стабильна. Так в штате Миннесота (США) средний возраст больных AL-амилоидозом на момент постановки диагноза составил 76 лет ( $D \div 38-90$  лет). Заболеваемость AL-амилоидозом с 1990 по 2015 г. с поправкой на возраст и пол составил 5,1–12,8 : 1 000 000 человеко-лет и практически не менялась в течение десятилетий, оставаясь на уровне 1,1, 0,9 и 1,6 на 100 000 человеко-лет без какого-либо увеличения в течение 26 лет. Авторы, исходя из этих данных, предположили, что в США ежегодно можно ожидать 3852 новых случаев AL-амилоидоза [70].

В исследовании, охватывающем период с 2007 по 2015 г., было обнаружено, что распространенность AL-амилоидоза в США значительно возросла с 15,5 : 1 000 000 в 2007 г. до 40,5 : 1 000 000 2015 г., что составляет ежегодное изменение на 12%. В то же время, заболеваемость колебалась от 9,7 до 14,0 : 1 000 000 человеко-лет без статистически значимого увеличения. В течение 9-летнего периода наблюдалось увеличение распространенности AL-амилоидоза в сочетании со стабильными показателями заболеваемости [71]. Имеются, результаты двух аналогичных исследований, проведенных примерно в одно время, существенно расходятся как количественно, так и в оценке тенденций к стабилизации или росту заболеваемости AL-амилоидозом.

Аналогичные данные приводятся по региону Лимузен (Франция), где данные региональной заболеваемости AL-амилоидозом были сведены в исчерпываю-

шую цифровую базу данных: средний возраст больных составил 72,5 года (70% мужчины), а заболеваемость 12,5 : 1 000 000 случаев. Расчетная распространенность AL-амилоидоза за период с 1 января 2012 г. по 31 декабря 2016 г. составила 58 : 1 000 000. Основной причиной заболевания была множественная миелома – 41% случаев [72]. Расчетная заболеваемость жителей Квинсленда (Австралия) амилоидозом с преобладающей формой AL со средним возрастом 66 лет составила 12,1 : 1 000 000 человеко-лет. У 72% обследованных с амилоидозом была выявлена дискразия плазматических клеток и, соответственно, парапротеинемия [73].

### Обсуждение

Итак, существует большое число этиологических факторов, вызывающих системный или локальный, приобретенный или наследственный амилоидоз. Распространенность и заболеваемость при их оценке по этиологическому признаку, поскольку оценивается, как правило, одна нозологическая форма, оказывается низкой, что создает ложное впечатление, что амилоидоз встречается относительно редко. В отношении распространенности некоторых форм амилоидоза популяционные исследования, видимо, не проводились никогда. Но, если все известные данные сводить в единую картину, оказывается, что амилоидоз явление частое. Особенно настораживает, что число больных амилоидозом увеличивается с возрастом, что возможно является одной, если не главной, причиной смерти долгожителей. Более того, амилоидоз может оказаться до сих пор не изученной причиной возрастной панцитопении. Таким образом, с увеличением продолжительности жизни, следует ожидать и увеличения распространенности амилоидоза.

Механизм повреждающего действия амилоида изучен недостаточно. Амилоид является абсолютно инертным веществом. При гистологическом исследовании пораженных органов не выявлено ни признаков воспалительной реакции на амилоид, ни некроза клеток окружающих тканей. Нет также и прямой зависимости между количеством депозитов амилоида и степенью нарушения функции органа у отдельных пациентов. Однако есть клинические наблюдения, что скорость отложения амилоида прямо влияет на темп развития заболевания, которое его вызвало [74]. Складывается впечатление, что отложения амилоида просто занимают ту часть пространства, в которой должны были бы располагаться клетки и функциональная строма органа. Похоже, что амилоид замещает коллагено-эластиновую матрицу органа. Отсутствие естественного, физиологического пространства для засе-

ления дифференцированных клеток и их предшественников заканчивается панцитопенией в пораженном органе, снижением его функционального резерва и в конечном итоге гибелью вместе с организмом. Это похоже на образование рубцовой ткани.

Между тем, пора бы отказаться о представлении об амилоиде как о белке или гликопротеине, поскольку существует очень большое количество исследований, посвященных изучению структуры амилоида из которых следует, что амилоид – супрамолекулярная наноструктура, имеющая отличные от белка физико-химические свойства. Методами рентгеноструктурного анализа [75–77], электронной микроскопии [78–80], рентгеновской микрокристаллографии [81], флуоресцентной микроскопии [82], атомно-силовой микроскопии [83, 84], ядерно-магнитного резонанса [85], белкового сиквенса [86, 87] убедительно доказано, что первичной структурой амилоида является нанотрубка [88], образуемая пептидными фрагментами, всегда из одной и той же незначительно различающейся последовательности аминокислот [89]. Эти фрагменты в результате самосборки незавершенными кольцами спирально укладываются в одноосевой кристалл – нанотрубку, поскольку одинаковые атомы, имеющие один и тот же порядковый номер в последовательности, расположены строго упорядоченно друг относительно друга как в кристалле [78]. По этой причине через каждые 4 оборота по длине трубки образуется избыточный положительный заряд, служащий местом связывания, например, конго красного, сульфатные группы которого разнесены в пространстве ровно на расстояние между этими пулами положительных зарядов [89], или любых других отрицательно заряженных молекул с относительно регулярным строением, например, полисахаридов. Учитывая единство физико-химических свойств амилоидов различного происхождения и их трехмерное структурное единообразие, они должны находиться в одном ряду с такими супрамолекулярными объектами как тубулиновые трубочки и другие микрофиламенты, коллаген и эластин, но для этого должна быть определена его физиологическая функциональность. У людей,  $\beta$ -амилоид, предположительно, является частью системы врожденного иммунитета [91], поскольку похож на пептид *группы* кателицидинов – LL-37 (катионный антимикробный белок человека, способный связываться с бактериальной мембраной) [92]. В настоящее время установлено, что у многих бактерий амилоид является функциональной структурой, участвующей в образовании пилей, курлей и биопленок [93–97].

Нами с помощью флуоресценции тиофлавина были обнаружены содержащие амилоид бактерии рото-

вой полости в детрите миндалин, выделенном у больных с хроническим тонзиллитом, также амилоид был обнаружен в цитоплазме и клеточном ядре ротовых амеб [98]. Поэтому хроническая бактериальная инфекция может являться этиологическим фактором развития амилоидоза не как агент, вызывающий хроническое воспаление, а как продуцент амилоида. Это позволяет внести существенное уточнение в теории происхождения амилоида (рис. 2). Это тем более необходимо потому, что относительно недавно обнаружена новая, ранее неизвестная и потому проходившая мимо статистики, форма амилоидоза – ALECT2 амилоидоз.

Что объединяет обсуждаемые виды амилоидоза? – Патогенез. Несмотря на значительное различие причин, инициирующих амилоидоз, однажды начавшись он развивается как самостоятельный патологический процесс. Вне зависимости от источника амилоида, сам по себе с физико-химической точки зрения он однороден и представляет собой формируемые из пептидов нанотрубки с регулярным расположением положительных зарядов на протяженности этой трубки [90], то есть, как и протеин LL-37, является катионом. Такое строение делает его хорошим сайтом отрицательно заряженных белков и полисахаридов. Образование амилоид-белково-полисахаридного комплекса придает ему структурную завершенность.

Есть ли основание выделять амилоидоз в самостоятельную нозологическую форму с подразделением на группы по этиологическому принципу? Скорее да, чем нет, такими состояниями являются, например, гипертоническая болезнь, хроническая сердеч-

ная недостаточность, хроническая почечная недостаточность. По своему клиническому течению амилоидоз похож на хроническую сердечную недостаточность (ХСН), оба состояния: 1) полиэтиологичны, 2) могут быть как первичными, так и вторичными, 3) наблюдается длительный бессимптомный период, 4) диагноз впервые устанавливается, когда в организме больного уже произошли значительные, часто необратимые изменения, 5) наблюдается полиорганность поражения. Между тем, если ХСН выделена в самостоятельный синдром, подлежащий статистическому учету, то амилоидоз не рассматривается как самостоятельный эпидемиологический паттерн и разделен на множество частных случаев в зависимости от этиологии и/или органного поражения. В результате складывается ложное впечатление о низкой частоте случаев амилоидоза в популяциях, что явно не способствует как пониманию проблемы, так и разработке средств и методов профилактики и лечения амилоидной патологии. Между тем, если все эти учитываемые по отдельности варианты амилоидоза свести воедино, картина заболеваемости будет совсем иная.

Завершая далеко не полный анализ эпидемиологии амилоидоза, хочется сделать ряд грустных выводов. Из результатов ряда исследований, посвященных эпидемиологии амилоидоза, осуществленных методологически разными способами наблюдения и статистической обработки собранного материала, невозможно получить истинную картину распространенности и заболеваемости амилоидозом. Становится только понятным, что амилоидоз встречается гораздо чаще, чем это принято думать. Причиной подобного состояния ами-

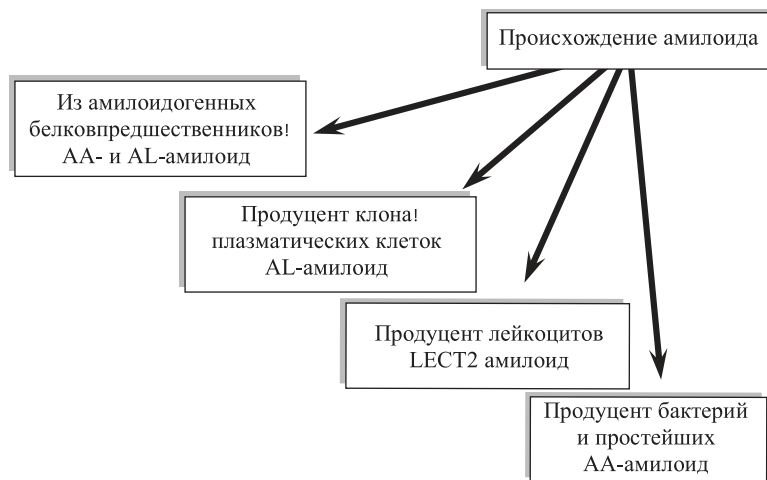


Рис. 2. Классификация амилоида по происхождению.



лоидной проблемы является преобладание этиологического мышления над патогенетическим. Выделение амилоидоза в самостоятельную патологию скорее всего выведет его на одно из первых мест в причинах смерти.

### Выводы:

1. Единых сопоставимых сведений о распространенности и заболеваемости амилоидозом нет;
2. Необходимо введение обязательного исследования материала биопсий и аутопсий на наличие амилоида с помощью окрашивания конго красным;
3. Необходимо создание цифрового национально-го реестра больных амилоидозом;
4. Необходима разработка методов ранней прижизненной диагностики амилоидоза, возможно, на основе протеомного анализа плазмы крови.

### Литература

(п.п. 2-4; 6; 7; 11-18; 20-26; 29-58; 60-74; 76-93; 96-98 см. References)

1. Сюрин А.А., Кобозев Г.В., Кулагин Ю.И., Сафронова Л.Г., Аникин Е.И., Кабелюженко С.Б. и др. Перекисное окисление липидов и изменение липидных фракций плазмы крови у больных гипертонической болезнью. *Вопросы медицинской химии*. 1991; 37(2): 26–8.
5. *Национальные клинические рекомендации «Диагностика и лечение АА – и АЛ–амилоидоза»*. Научное общество нефрологов России, Ассоциация нефрологов России. М.; 2014.
8. Васильев В.И., Городецкий В.Р., Логвиненко О.А., Пробатова Н.А., Варламова Е.Ю., Павловская А.И. и др. Дифференциальная диагностика плазматических дискразий в ревматологической практике. *Современная ревматология*. 2010; 4(4): 16–24.
9. Васильев В.И., Городецкий В.Р., Логвиненко О.А., Седышев С.Х., Александрова Е.Н., Пальшина С.Г. и др. Ревматические маски плазматических дискразий. *Научно–практическая ревматология*. 2012; 2(51): 35–43.
10. Смирнова А.Г. Дифференциальная диагностика АЛ–амилоидоза. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова*. 2008; 15(4): 16–20.
19. Муравьев Ю.В., Алексеева А.В. Частота АА–амилоидоза при ревматических заболеваниях (по данным ГУ института ревматологии РАМН). *Научно–практическая ревматология*. 2004; 3: 20–2.
27. Тец В.В., Артеменко Н.К., Вечерковская М.Ф., Тец Г.В. Амилоид в биопленках бактерий при муковисцидозе. *Практическая пульмонология*. 2017; 2: 72–5.
28. Козлов В.А., Сапожников С.П., Шепутхина А.И., Голенков А.В. Сравнительный анализ различных моделей амилоидоза. *Вестник Российской Академии медицинских наук*. 2015; 70(1): 5–11.
59. Козловская Л.В., Рамеев В.В., Саркисова И.А. Амилоидоз у пожилых. *Клиническая медицина*. 2005; 83(6): 12–20.
75. Смирнова А.Г. Дифференциальная диагностика АЛ–амилоидоза. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова*. 2008; 15(4): 16–20.
94. Кудинова Н.В., Кудинов А.Р., Березов Т.Т. Амилоид бета: функциональный белок или биологический мусор? *Биомедицинская химия*. 2007; 53(2): 119–27.
95. Рекстина В.В., Горковский А.А., Безсонов Е.Е., Калебина Т.С. Амилоидные белки поверхности микроорганизмов: структура, свойства и значение для медицины. *Вестник Российской государственного медицинского университета*. 2016; 1: 4–13.

### References

1. Siurin A.A., Kobozev G.V., Kulagin Yu.I., Safronova L.G., Anikin E.I., Kabeliuzhenko S.B. et al. Lipid peroxidation and change in the lipid fraction of plasma in patients with hypertonic disease. *Voprosy meditsinskoj khimii*. 1991; 37(2): 26–8. (in Russian)
2. Pinney J.H., Smith C.J., Taube J.B., Lachmann H.J., Venner C.P., Gibbs S.D., et al. Systemic amyloidosis in England: an epidemiological study. *Br. J. Haematol*. 2013; 161: 525–32. <https://doi.org/10.1111/bjh.12286>
3. Nienhuis H.L., Bijzet J., Hazenberg B.P. The Prevalence and Management of Systemic Amyloidosis in Western Countries. *Kidney Dis (Basel)*. 2016; 2(1): 10–9. <https://doi.org/10.1159/000444206>
4. Real de Asúa D., Costa R., Galván J.M., Filigheddu M.T., Trujillo D., Cadiñanos J. Systemic AA amyloidosis: epidemiology, diagnosis, and management. *Clin. Epidemiol*. 2014; 29(6): 369–77. <https://doi.org/10.2147/CLEP.S39981>
5. *National clinical recommendations “Diagnosis and treatment of AA – and AL–amyloidosis”*. Scientific society of Russia nephrologists, Association of nephrologists of Russia. 2014. (in Russian)
6. Benson M.D., Buxbaum J.N., Eisenberg D.S., Merlini G., Saraiva M.J.M., Sekijima Y. et al. Amyloid nomenclature 2018: recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee. *Amyloid*. 2018; 25(4) 215–19. <https://doi.org/10.1080/13506129.2018.1549825>
7. Kyle R., Rajkumar S. Monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Best Pract. Res. Clin. Haematol*. 2005; 18: 689–707. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.33>
8. Vasiliev V.I., Gorodetsky V.R., Logvinenko O.A., Probatova N.A., Varlamova E.Yu. et al. Differential diagnosis of plasma dyscrasias in rheumatology practice. *Sovremennaya revmatologiya*. 2010; 4(4): 16–24. (in Russian)
9. Vasiliev V.I., Gorodetsky V.R., Logvinenko O.A., Sedyshev S.H., Al-exandrova E.N., Palshina S.G., et al. Rheumatic masks of plasma dyscrasias. *Nauchno–prakticheskaya revmatologiya*. 2012; 2(51): 35–43. (in Russian)
10. Smirnova E. A., Abdurakhmanova E. K., Filonenko S): Systemic AL–amyloidosis: difficulties of diagnosis (literature review and own data). *Rossiyskiy mediko–biologicheskij vestnik imeni akademika I.P. Pavlova*. 2016; 24(3): 141–53. (in Russian)
11. Hemminki K., Li X., Försti A., Sundquist J., Sundquist K. Incidence and survival in non–hereditary amyloidosis in Sweden. *BMC Public Health*. 2012; 12: 974. <https://doi.org/10.1186/1471–2458–12–974>
12. Alexander K.M., Orav J., Singh A., Jacob S.A., Menon A., Padera R.F., et al. Geographic Disparities in Reported US Amyloidosis Mortality From 1979 to 2015: Potential Underdetection of Cardiac Amyloidosis. *JAMA Cardiol*. 2018; 3(9): 865–70. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2018.2093>
13. Su V.Y., Liu C.J., Hu Y.W., Su W.J., Chen Y.M., Lai S.L. et al. Amyloidosis and the risk of cancer: a nationwide population–based study. *Int. J. Clin. Oncol*. 2015; 20(6): 1244–51. <https://doi.org/10.1007/s10147–015–0849–9>
14. Ryu J., Ryu H., Kim S., Chin H.J., Na K.Y., Chae D.W. et al. Comparison of cancer prevalence between patients with glomerulonephri-

- tis and the general population at the time of kidney biopsy. *PLoS One*. 2019; 14(10): e0224024. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224024>
15. Sucker C., Hetzel G.R., Grabensee B., Stockschlaeder M., Scharf R.E. Amyloidosis and bleeding: pathophysiology, diagnosis, and therapy. *Am. J. Kidney Dis.* 2006; 47(6): 947. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2006.03.036>
  16. Pepys M.B. Amyloidosis. *Annual Review of Medicine*. 2006; 57: 223–41. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.57.121304.131243>
  17. Hazenberg B.P. Amyloidosis: a clinical overview. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*. 2013; 39(2): 323–45. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2013.02.012>
  18. Urieli–Shoval S., Linke R.P., Matzner Y. Expression and function of serum amyloid A, a major acute–phase protein, in normal and disease states. *Curr Opin Hematol*. 2000; 7(1): 64–9. <https://doi.org/10.1097/00062752–200001000–00012>
  19. Muravev Yu. V., Alekseeva A.V. Frequency of AA–amyloidosis in rheumatic diseases (according to the state Institute of rheumatology of the Russian Academy of medical Sciences). *Nauchno–prakticheskaja revmatologija*. 2004; 3: 20–2. (in Russian)
  20. Nakano M., Ueno M., Nishi S., Shimada H., Hasegawa H., Watanabe T., et al. Analysis of renal pathology and drug pathology and drug histology in 158 Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Nephrol*. 1998; 50: 154–60.
  21. Jai Prakash, Takhellambam Brojen, Surendra Singh Rathore, Tauhidul Alam Choudhury, Tribhuwan Gupta & Usha The Changing Pattern of Renal Amyloidosis in Indian Subcontinent: Two Decades of Experience from a Single Center. *Ren Fail*. 2012; 34(10): 1212–16. <https://doi.org/10.3109/0886022X.2012.723514>
  22. Bello A.K., Levin A., Tonelli M., Okpechi I.G., Feehally J., Harris D. et al. Assessment of Global Kidney Health Care Status. *JAMA*. 2017; 317(18): 1864–81. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.4046>
  23. Alwahaibi N.Y., Al Issaei H.K., Al Dhahli B.S. Spectrum of glomerular diseases in Arab countries: A systematic review. *Saudi J. Kidney Dis. Transpl*. 2018; 29(6): 1256–66. <https://doi.org/10.4103/1319–2442.248285>
  24. MacNeil A., Glaziou P., Sismanidis C., Date A., Maloney S., Floyd K. Global Epidemiology of Tuberculosis and Progress Toward Meeting Global Targets – Worldwide, 2018. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep*. 2020; 69(11): 281–85. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6911a2>
  25. Engineer D.P., Kute V.B., Patel H.V., Shah P.R. Clinical and laboratory profile of renal amyloidosis: A single–center experience. *Saudi J. Kidney Dis. Transpl*. 2018; 29(5): 1065–72. <https://doi.org/10.4103/1319–2442.243966>
  26. Agab Eldour A.A., Mohamed Salih E.N., Ahmed H.G. Incidence of Tuberculosis and Amyloidosis among Sudanese Patients Presented with Enlarged Nodes. *J. Trop. Med*. 2014; 2014: 832029. <https://doi.org/10.1155/2014/832029>
  27. Tets V.V., Artemenko N.K., Vecherkovskaya M.F., Tets G.V. Amyloid in bacterial biofilms in cystic fibrosis. *Prakticheskaya pul'monologiya*. 2017; 2: 72–5. (in Russian)
  28. Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Sheptukhina A.I., Golenkov AV. Comparative analysis of various models of amyloidosis. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2015; 70(1): 5–11. (in Russian)
  29. Benson M.D., James S., Scott K., Liepnieks J.J., Kluge–Beckerman B. Leukocyte chemotactic factor 2: A novel renal amyloid protein. *Kidney Int*. 2008; 74(2): 218–22. <https://doi.org/10.1038/ki.2008.152>
  30. Dogan A. Amyloidosis: Insights from Proteomics. *Annu Rev. Pathol*. 2017; 12: 277–304. <https://doi.org/10.1146/annurev–pathol–052016–100200>
  31. Larsen C.P., Ismail W., Kurtin P.J., Vrana J.A., Dasari S., Nasr S.H. Leukocyte chemotactic factor 2 amyloidosis (ALECT2) is a common form of renal amyloidosis among Egyptians. *Mod. Pathol*. 2016; 29(4): 416–20. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2016.29>
  32. Larsen C.P., Beggs M.L., Wilson J.D., Lathrop S.L. Prevalence and organ distribution of leukocyte chemotactic factor 2 amyloidosis (ALECT2) among decedents in New Mexico. *Amyloid*. 2016; 23(2): 119–23. <https://doi.org/10.3109/13506129.2016.1145110>
  33. Waddington–Cruz M., Schmidt H., Botteman M.F., Carter J.A., Stewart M., Hopps M et al. Epidemiological and clinical characteristics of symptomatic hereditary transthyretin amyloid polyneuropathy: a global case series. *Orphanet J. Rare Dis*. 2019; 14(1): 34. <https://doi.org/10.1186/s13023–019–1000–1>
  34. Schmidt H.H., Waddington–Cruz M., Botteman M.F., Carter J.A., Chopra A.S., Hopps M., et al. Estimating the global prevalence of transthyretin familial amyloid polyneuropathy. *Muscle Nerve*. 2018; 57(5): 829–37. <https://doi.org/10.1002/mus.26034>
  35. Andreou S., Panayiotou E., Michailidou K., Pirpa P., Hadjisavvas A., El Salloukh A. et al. Epidemiology of ATTRV30M neuropathy in Cyprus and the modifier effect of complement C1q on the age of disease onset. *Amyloid*. 2018; 25(4): 220–26. <https://doi.org/10.1080/13506129.2018.1534731>
  36. Hemminki K., Li X., Försti A., Sundquist J., Sundquist K. Incidence of hereditary amyloidosis and autoinflammatory diseases in Sweden: endemic and imported diseases. *BMC Med Genet*. 2013; (14): 88. <https://doi.org/10.1186/1471–2350–14–88>
  37. Inês M., Coelho T., Conceição I., Duarte–Ramos F., de Carvalho M., Costa J. Epidemiology of Transthyretin Familial Amyloid Polyneuropathy in Portugal: A Nationwide Study. *Neuroepidemiology*. 2018; 51(3–4): 177–82. <https://doi.org/10.1159/000490553>
  38. Kiuru S. Gelsolin–related familial amyloidosis, Finnish type (FAF), and its variants found worldwide. *Amyloid*. 1998; 5(1): 55–66. <https://doi.org/10.3109/13506129809007291>
  39. Schmidt E.K., Atula S., Tanskanen M., Nikoskinen T., Notkola I.L., Kiuru–Enari S. Causes of death and life span in Finnish gelsolin amyloidosis. *Ann. Med*. 2016; 48(5): 352–58. <https://doi.org/10.1080/07853890.2016.1177197>
  40. Atula S., Nikoskinen T., Saastamoinen A., Strbian D., Schmidt E.K., Kiuru–Enari S. Gender differences in the clinical course of Finnish gelsolin amyloidosis. *Amyloid*. 2016; 23(1): 33–8. <https://doi.org/10.3109/13506129.2015.1119111>
  41. Rivas A.L., Tintle L., Meyers–Wallen V., Scarlett J.M., Van Tassel C., Quimby F.W. Inheritance of renal amyloidosis in Chinese Shar Pei dogs. *J. Hered*. 1993; 84(6): 438–42.
  42. Ozdemir O., Sezgin I., Kurtulgan H.K., Candan F., Koksall B., Sumner H. et al. Prevalence of known mutations in the MEFV gene in a population screening with high rate of carriers. *Mol. Biol. Rep*. 2011; 38(5): 3195–200. <https://doi.org/10.1007/s11033–010–9991–7>
  43. Yashdeep Gupta., Gaurav Singla., Rajiv Singla. Insulin–derived amyloidosis. *Indian J. Endocrinol. Metab*. 2015; 19(1): 174–77. <https://doi.org/10.4103/2230–8210.146879>
  44. D'Souza A., Theis J.D., mVrana J.A., Dogan A. Pharmaceutical amyloidosis associated with subcutaneous insulin and enfuvirtide administration. *Amyloid*. 2014; 21(2): 71–5. <https://doi.org/10.3109/13506129.2013.876984>

45. Hagiwara S., Taneda S., Fukumoto T., Hagiwara K., Kikuchi M., Kimura T., et al. Localized Subcutaneous Insulin-Derived Amyloidosis Excised after Evaluation Using Ultrasonography in a Patient with Type 2 Diabetes Mellitus. *Case Rep. Endocrinol.* 2017; 2017: 3985214. <https://doi.org/10.1155/2017/3985214>
46. Kikuchi M., Hirokawa N., Hagiwara S., Nakayama H., Taneda S., Manda N., et al. Ultrasonography Improves Glycemic Control by Detecting Insulin-Derived Localized Amyloidosis. *Ultrasound Med. Biol.* 2017; 43(10): 2284–94. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2017.06.011>
47. Shikama Y., Kitazawa J., Yagihashi N., Uehara O., Murata Y., Yajima N. et al. Localized amyloidosis at the site of repeated insulin injection in a diabetic patient. *Intern. Med.* 2010; 49: 397–401. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.49.2633>
48. Harris M., Brathwaite R., McGowan C.R., Ciccarone D., Gilchrist G., McCusker M., et al. ‘Care and Prevent’: rationale for investigating skin and soft tissue infections and AA amyloidosis among people who inject drugs in London. *Harm Reduct J.* 2018; 85(1): 23. <https://doi.org/10.1186/s12954-018-0233-y>
49. Harris M., Brathwaite R., Scott J., Gilchrist G., Ciccarone D., Hope V., et al. Drawing attention to a neglected injecting-related harm: a systematic review of AA amyloidosis among people who inject drugs. *Addiction.* 2018; 113(10): 1790–801. <https://doi.org/10.1111/add.14257>
50. Sharma A., Govindan P., Toukatly M., Healy J., Henry C., Senter S., et al. Heroin Use Is Associated with AA-Type Kidney Amyloidosis in the Pacific Northwest. *CJASN.* 2018; 13(7): 1030–36. <https://doi.org/10.2215/CJN.13641217>
51. Jung O., Haack H.S., Buettner M., Betz C., Stephan C., Gruetzmacher P. et al. Renal AA-amyloidosis in intravenous drug users—a role for HIV-infection? *BMC Nephrol.* 2012; 13: 151. <https://doi.org/10.1186/1471-2369-13-151>
52. Schumacher D.L. Understanding the Basics of Primary Systemic Amyloidosis. *The Journal of Continuing Education in Nursing.* 2004; 35(1): 15–6. <https://doi.org/10.3928/0022-0124-20040101-06>
53. Seo S.R., Jang S.Y., Lee G.Y., Choi B., Chun H., Cho E.J., et al. Prevalence of Amyloidosis in Korea. *Orphanet. J. Rare Dis.* 2017; 12(1): 152. <https://doi.org/10.1186/s13023-017-0705-2>
54. Tanskanen M., Peuralinna T., Polvikoski T., Notkola I.L., Sulkava R., Hardy J., et al. Senile systemic amyloidosis affects 25% of the very aged and associates with genetic variation in alpha2-macroglobulin and tau: a population-based autopsy study. *Ann Med.* 2008; 40: 232–39. <https://doi.org/10.1080/07853890701842988>
55. Cornwell G.G., III, Murdoch W.L., Kyle R.A., Westermarck P., Pitkanen P. Frequency and distribution of senile cardiovascular amyloid. A clinicopathologic correlation. *Am. J. Med.* 1983; 75: 618–23. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(83\)90443-6](https://doi.org/10.1016/0002-9343(83)90443-6)
56. Connors L.H., Sam F., Skinner M., Salinaro F., Sun F., Ruberg F.L., et al. Heart Failure Resulting From Age-Related Cardiac Amyloid Disease Associated With Wild-Type Transthyretin: A Prospective, Observational Cohort Study. *Circulation.* 2016; 133(3): 282–90. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018852>
57. Grogan M., Scott C.G., Kyle R.A., Zeldenrust S.R., Gertz M.A., Lin G. et al. Natural History of Wild-Type Transthyretin Cardiac Amyloidosis and Risk Stratification Using a Novel Staging System. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016; 68(10): 1014–20. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.06.033>
58. Pinney J.H., Hawkins P.N. Amyloidosis. *Ann. Clin. Biochem.* 2012; 49 (Pt 3): 229–41. <https://doi.org/10.1258/acb.2011.011225>
59. Kozlovskaya L.V., Rameyev V.V., Sarkisova I.A. Amyloidosis in the elderly. *Clinicheskaya meditsina.* 2005; 83(6): 12–20. (in Russian)
60. Gilstrap L.G., Dominici F., Wang Y., El-Sady M.S., Singh A., Di Carli M.F. et al. Epidemiology of Cardiac Amyloidosis—Associated Heart Failure Hospitalizations Among Fee-for-Service Medicare Beneficiaries in the United States. *Circ Heart Fail.* 2019; 12(6): e005407. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.118.005407>
61. Perkowska-Ptasinska A., Deborska-Materkowska D., Bartczak A., Stompór T., Liberek T., Bullo-Piontecka B., et al. Kidney disease in the elderly: biopsy-based data from 14 renal centers in Poland. *BMC Nephrol.* 2016; 17(1): 194.
62. Argon A., Sımşır A., Sarsik B., Tuna B., Yörükoğlu K., Nıflıoğlu G.G., et al. Amyloidosis of seminal vesicles; incidence and pathologic characteristics. *Turk. Patoloji Derg.* 2012; 28(1): 44–8. <https://doi.org/10.5146/tjpath.2012.01096>
63. Bailly L., David R., Chevrier R., Grebet J., Moncada M., Fuch A., et al. Alzheimer’s disease: Estimating its prevalence rate in a French geographical unit using the National Alzheimer Data Bank and national health insurance information systems. *PLoS One.* 2019; 14(5): e0216221. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216221>
64. Plassman B.L., Langa K.M., Fisher G.G., Heeringa S.G., Weir D.R., Ofstedal M.B. et al. Prevalence of dementia in the United States: the aging, demographics, and memory study. *Neuroepidemiology.* 2007; 29(1–2): 125–32. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-148-6-200803180-00005>
65. Steenland K., Goldstein F.C., Levey A., Wharton W. A Meta-Analysis of Alzheimer’s Disease Incidence and Prevalence Comparing African-Americans and Caucasians. *J. Alzheimers Dis.* 2016; 50(1): 71–6. <https://doi.org/10.3233/JAD-150778>
66. Zhao X., Li X. The prevalence of Alzheimer’s disease in the Chinese Han population: a meta-analysis. *Neurol. Res.* 2020; 42(4): 291–98. <https://doi.org/10.1080/01616412.2020.1716467>
67. The kidney in plasma cell dyscrasias. Ed. G.A. Herera, *Contributions to Nephrology*, V. 153. Basel: Karger, 2007. <https://doi.org/10.1159/000096756>
68. Dispersion E., Bridu F., Syracuse K., Delb S., Bender S., Fernandez B., et al. AL-amyloidosis. *Nefrologia.* 2014; 18(4): 36–50.
69. Merlini G., Wechalekar A. D., Palladini G. Systemic light chain amyloidosis: an update for treating physicians. *Blood.* 2013; 121(26): 5124–30. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-01-453001>
70. Abbott K.C., Agodoa L.Y. Multiple myeloma and light chain-associated nephropathy at end-stage renal disease in the United States: patient characteristics and survival. *Clinical Nephrology.* 2001; 56(3): 207–10. <https://doi.org/10.5414/cnp58009>
71. Kyle R.A., Larson D.R., Kurtin P.J., Kumar S., Cerhan J.R., Therneau T.M., et al. Incidence of AL Amyloidosis in Olmsted County, Minnesota, 1990 through 2015. *Mayo Clin. Proc.* 2019; 94(3): 465–71. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.08>
72. Quock T.P., Yan T., Chang E., Guthrie S., Broder M.S. Epidemiology of AL amyloidosis: a real-world study using US claims data. *Blood Adv.* 2018; 2(10): 1046–53. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2018016402>
73. Mohty D., Duhamel S., Magne J., Lavergne D., Bordessoule D., Abovans V., et al. Incidence and prevalence of light chain amyloidosis: a population-based study. *European Heart J.* 2018; 39(suppl. 1): 380. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy565.P1813>
74. Wisniewski B., McLeod D.S.A., Adams R., Harvey Y., Brown I., McGuire L. et al. The epidemiology of amyloidosis in Queensland, Australia. *Br. J. Haematol.* 2019; 186(6): 829–36. <https://doi.org/10.1111/bjh.16000>
75. Smirnova A.G. Differential diagnosis of AL-amyloidosis. St. Petersburg State Medical University named after Academician I.P. Pavlov.

- [Ucheny'e zapiski Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta imeni akademika I.P. Pavlova]. 2008; 15(4): 16–20. (in Russian)
76. Kumar S., Udgaonkar J.B. Structurally distinct amyloid protofibrils form on separate pathways of aggregation of a small protein. *Biochemistry*. 2009; 48(27): 6441–49. <https://doi.org/10.1021/bi900682w>
  77. Cohen A.S., Calkins E. Electron microscopic observations on a fibrous component in amyloid of diverse origins. *Nature*. 1959; 25(183(4669)): 1202–03.
  78. Sunde M., Blake C. The structure of amyloid fibrils by electron microscopy and X-ray diffraction. *Advances in protein chemistry*. 1997; 50: 123–59. [https://doi.org/10.1016/s0065-3233\(08\)60320-4](https://doi.org/10.1016/s0065-3233(08)60320-4)
  79. Baldwin A.J., Knowles T.P., Tartaglia G., Fitzpatrick A., Devlin G., Shammass S. et al. Metastability of native proteins and the phenomenon of amyloid formation. *J. Am. Chem. Soc.* 2011. 133: 14160–63. <https://doi.org/10.1021/ja2017703>
  80. Bonar L.C., Cohen A.S., Skinner M. Characterization of amyloid fibril as a cross-B-protein. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1969; 31(4): 1373–75. <https://doi.org/10.3181/00379727-131-34110>
  81. Carrotta R., Manno M., Bulon D., Martorana V., San Biagio, P.L. Protofibril formation of amyloid beta-protein at low pH via a non-cooperative elongation mechanism. *J. Biol. Chem.* 2005; 280: 30001–8. <https://doi.org/10.1074/jbc.M500052200>
  82. Tayeb-Fligelman E., Tabachnikov O., Moshe A., Goldshmidt-Tran O., Sawaya M.R., Coquelle N., et al. The cytotoxic Staphylococcus aureus PSM $\alpha$ 3 reveals a cross- $\alpha$  amyloid-like fibril. *Science*. 2017; 355(6327): 831–3. doi: 10.1126/science.aaf4901
  83. Hanczyc P., Sznitko L. Laser-Induced Population Inversion in Rhodamine 6G for Lysozyme Oligomer Detection. *Biochemistry*. 2017; 56(22): 2762–5. doi: 10.1021/acs.biochem.7b00243
  84. Baxa U., Keller P.W., Cheng N., Wall J.S., Steven A.C. In Sup35p filaments (the [PSI<sup>+</sup>] prion), the globular C-terminal domains are widely offset from the amyloid fibril backbone. *Mol. Microbiol.* 2011; 79(2): 523–32. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07466.x>
  85. Xu S., Bervis B., Arnsdorf M.F. The assembly of amyloidogenic yeast sup35 as assessed by scanning (atomic) force microscopy: an analogy to linear colloidal aggregation?. *Biophys. J.* 2001; 81: 446–54. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(01\)75712-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(01)75712-8)
  86. Nelson R., Sawaya M.R., Balbirnie M., Madsen A., Riekel C., Grothe R., et al. Structure of the cross-beta spine of amyloid-like fibrils. *Nature*. 2005; 435(7043): 773–8. <https://doi.org/10.1038/nature03680>
  87. Nakazato M., Matsukura S. New Type of Amyloidosis  $\beta$ . Islet Amyloid Polypeptide (IAPP/Amylin) in Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Internal Medicine*. 1993; 32(12): 928–9. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.32.928>
  88. Sorin Luca, Wai-Ming Yau, Richard Leapman, Robert Tycko Peptide Conformation and Supramolecular Organization in Amylin Fibrils: Constraints from Solid State NMR. *Biochemistry*. 2007; 46(47): 13505–22. <https://doi.org/10.1021/bi701427q>
  89. Perutz M.F., Finch J.T., Berriman J., Lesk A. Amyloid fibers are water-filled nanotubes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; 99(8): 5591–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.042681399>
  90. Glenner G.G., Eanes E.D., Bladen H.A., Linke R.P., Termine J.D. Beta-pleated sheet fibrils. A comparison of native amyloid with synthetic protein fibrils. *J. Histochem Cytochem.* 1974; 22(12): 1141–58. <https://doi.org/10.1177/22.12.1141>
  91. Klunk W.E., Pettegrew J.W., Abraham D.J. Quantitative evaluation of congo red binding to amyloid-like proteins with a beta-pleated sheet conformation. *J. Histochem. Cytochem.* 1989; 37(8): 1273–81. <https://doi.org/10.1177/37.8.2666510>
  92. Soscia S.J., Kirby J.E., Washicosky K.J., Tucker S.M., Ingelsson M., Hyman B., et al. The Alzheimer's Disease-Associated Amyloid  $\beta$ -Protein Is an Antimicrobial Peptide. *PLoS ONE*, 2010; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009505>
  93. Wang G., Epan R.F., Mishra B., Lushnikova T., Thomas V.C., Bayles K.W., et al. Decoding the functional roles of cationic side chains of the major antimicrobial region of human cathelicidin LL-37. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012; 56(2): 845–56. <https://doi.org/10.1128/AAC.05637-11>
  94. Kudinova N.V., Kudinov A.R., Berezov T.T. Amyloid beta: functional protein or biological debris? *Biomeditsinskaya khimiya*. 2007; 53(2): 119–27. (in Russian)
  95. Rekestina V.V., Gorkovskii A.A., Bezsonov E.E., Kalebina T.S. Amyloid proteins the surface of microorganisms: structure, properties and significance for medicine. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2016; 1: 4–13. (in Russian)
  96. Chapman M.R., Robinson L.S., Pinkner J.S., Roth R., Heuser J., Hammar M., et al. Role of Escherichia coli curli operons in directing amyloid fiber formation. *Science (New York)*. 2002; 295: 851–55. <https://doi.org/10.1126/science.1067484>
  97. Claessen D., Rink R., de Jong W., Siebring J., de Vreugd P., Boersa F.G.H. et al. A novel class of secreted hydrophobic proteins is involved in aerial hyphae formation in Streptomyces coelicolor by forming amyloid-like fibrils. *Genes & development*. 2003; 17: 1714–726. <https://doi.org/10.1101/gad.264303>
  98. Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Fufayeva A.I. Chronic tonsillitis as an inducer of the tonsil's amyloidosis. In: *Scientific research of the SCO countries: synergy and integration International conference*. 2019; 118–27.

#### Сведения об авторах:

**Козлов Вадим Авенирович**, доктор биол. наук, канд. мед. наук, проф. каф. медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, e-mail: rooh12@yandex.ru;

**Сапожников Сергей Павлович**, доктор мед. наук, зав. каф. медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, e-mail: adaptagon@mail.ru;

**Голенков Андрей Васильевич**, доктор мед. наук, проф., зав. каф. психиатрии, медицинской психологии и неврологии, e-mail: golenkovav@inbox.ru

© Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., 2021

УДК 616-092

Геворкян Н.М.,<sup>1</sup> Тишевская Н.В.<sup>2</sup>

## Патогенез как проблема функциональной несостоятельности и дисбаланса в популяции Т-лимфоцитов

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ биомедицины им. В.Н. Ореховича»,

119121, Москва, Россия, ул. Погодинская, д. 10;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»,

454092, Челябинск, Россия, ул. Воровского, д. 64

Цель обзора – анализ клеточной основы патогенеза различных заболеваний в свете регуляторной роли Т-лимфоцитов. Рассматривается роль поликлонального многообразия популяции Т-лимфоцитов, особых свойств этих клеток-представителей гомеостатической системы организма в физиологических процессах в норме и при патологии. Указаны перспективы терапевтического и профилактического воздействий, связанные с использованием суммарных РНК нормальных лимфоидных клеток аллогенной и ксеногенной природы. Указана также возможность создания с помощью лимфоцитарных суммарных РНК адекватных моделей заболеваний человека на пути к развитию персонализированной медицины.

**Ключевые слова:** патогенез; регенерация; лимфоидные клетки; суммарная РНК; саногенез; персонализированная медицина

**Для цитирования:** Геворкян Н.М., Тишевская Н.В. Патогенез заболеваний как проблема функциональной несостоятельности и дисбаланса в популяции Т-лимфоцитов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(2): 109-119.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.109-119

**Для корреспонденции:** Геворкян Нина Михайловна, e-mail: gevorkiann@yandex.ru

**Участие авторов:** идея и концепция – Геворкян Н.М.; обсуждение, написание текста, редактирование – Геворкян Н.М., Тишевская Н.В.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021-2030 гг.) (ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича»).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.02.2021

Принята к печати 25.03.2021

Опубликована 30.06.2021

Gevorkyan N.M.<sup>1</sup>, Tishevskaya N.V.<sup>2</sup>

## Pathogenesis as a problem of functional incompetence and imbalance in the population of T-lymphocytes

<sup>1</sup>V.N. Orekhovich Research Institute of Biomedical Chemistry,

Pogodinskaya St. 10, Moscow 119121, Russian Federation;

<sup>2</sup>South Ural State Medical University,

Vorovskogo St. 64, Chelyabinsk 454092, Russian Federation

This review provides an analysis of the cellular basis of the pathogenesis of various diseases in the light of the regulatory role of T-lymphocytes. The role of the polyclonal diversity of the population of T-lymphocytes, the special properties of these cells-representatives of the homeostatic system of the body, in physiological processes in health and disease is considered. Prospects for therapeutic and prophylactic effects associated with the use of total RNA of normal lymphoid cells of allogeneic and xenogenic origin are indicated. The possibility of creating, using lymphocytic total RNA, adequate models of human diseases for the development of personalized medicine is also indicated.

**Keywords:** pathogenesis; regeneration; lymphoid cells; total RNA; sanogenesis; personalized medicine

**For citation:** Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V. Pathogenesis as a problem of functional incompetence and imbalance in the population of T-lymphocytes. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal).* 2021; 65(2): 109-119. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.109-119

**For correspondence:** Nina M. Gevorkyan, researcher, laboratory for protein biosynthesis of «V.N. Orekhovich Research Institute of Biomedical Chemistry», 10 Pogodinskaya Str., Moscow 119121, Russian Federation, e-mail: gevorkiann@yandex.ru

**Contribution:** idea and concept – Gevorkyan N.M.; discussion, writing text, editing – Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V.

**Financing.** This work was done in the framework of the Russian Federation fundamental research Program for the long-term period for 2021-2030 (V.N. Orekhovich Research Institute of Biomedical Chemistry).

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

**Information about the authors:**

Gevorkyan N.M., <https://orcid.org/0000-0002-0386-4010>

Tishevskaya N.V., <https://orcid.org/0000-0002-4912-3111>

Received 10.02.2021

Accepted 25.03.2021

Published 30.06.2021

Суммируя известные определения, можно охарактеризовать понятие «этиология заболевания» как раздел общей нозологии, изучающий причины развития болезней, обусловленные наличием (а) патогенных факторов, вызывающих эти болезни и придающих им специфические черты, и (б) условий, подходящих для развития болезней и связанных с реактивностью организма в момент воздействия на него патогенного фактора. А понятие «патогенез заболевания» — как учение о механизмах развития, течения, специфических особенностях и исходах заболевания. Таким образом, знание этиологических факторов лежит в основе профилактических и этиотропных мер, а знание патогенеза, прежде всего, создает основу для дифференциальной диагностики заболевания, а также для разработки наиболее адекватной основы его лечения.

На современном этапе в ряде стран уже установилась, а в других активно развивается практика императивного применения стандартной схемы (протокол) лечения пациента после установления диагноза. И это несмотря на то, что «в общей нозологии существует понятие *реактивности* организма, изучаемое как в разделе этиологии, так и патогенеза и имеющее непосредственное отношение ко всем этапам патологического процесса — от его возникновения до исхода» [1]. По И.В. Давыдовскому, «патогенез есть свойство реагирующего субстрата». В этой самой краткой формулировке — суть специфических особенностей и причина исходов заболеваний, где определяющая роль отводится реактивности (чувствительности) организма в отношении вызывающих болезнь патогенных факторов. Даже сама возможность развития патологического процесса у того или иного индивида под действием патогенного фактора обусловлена чувствительностью его организма к этому фактору вообще и в момент воздействия в частности. Иными словами, «заболевание есть результат не столько действия, сколько взаимодействия причины с организмом» [2], то есть именно реактивностью организма обусловлены индивидуаль-

ные особенности развития, течения и исхода заболевания. К приведенным определениям этиологии и патогенеза следует добавить, что и саногенез как науку о механизмах выздоровления столь же справедливо можно определить как свойство реагирующего субстрата, поскольку «уровень индивидуальной адаптации каждого человека и есть уровень его здоровья» [2].

В организме таким субстратом, способным оперативно реагировать одновременно на химические, физические и психические воздействия, является объединенная гомеостатическая иммуно-нейро-эндокринная система, в функционировании которой важнейшую роль играют циркулирующие лимфоидные клетки. В отличие от клеток нервной системы, нервные окончания которых вездесущи, но сами клетки неподвижны, а передача импульсов в каждой из них происходит строго по определенным траекториям, лимфоциты, также являясь многокомпонентной и многофункциональной клеточной системой, представлены чрезвычайно многочисленной (в организме млекопитающего лимфоцитов по меньшей мере в 20 раз больше, чем нейронов [3]) и разнообразной популяцией одноименных клеток, способных в нужный момент оказаться в любой точке организма.

В общей популяции этих клеток различают В- и Т-лимфоциты. Среди Т-лимфоцитов в настоящее время выделяют две крупные разновидности —  $\alpha\beta$ - и  $\gamma\delta$ -Т-клетки. Первая из них, составляющая популяцию, наиболее разнообразную по структуре Т-клеточных рецепторов (образованных цепями  $\alpha$  и  $\beta$ ), хорошо известна: эти Т-клетки выполняют регуляторную функцию в отношении В-лимфоцитов-антителопродуцентов, то есть участвуют собственно в развитии защитной иммунной реакции в ответ на чужеродный антиген, с образованием лимфоцитов памяти, ускоряющих ответ системы и повышающих его эффективность при повторном контакте с таким же антигеном. К клеткам второго типа следует отнести другую популяцию клонов Т-лимфоцитов, непрерывно осуществляющих

*Патогенез есть свойство реагирующего субстрата.*  
И.В. Давыдовский

регуляторную роль, участвуя в физиологической регенерации органов и тканей на протяжении всей жизни организма, а также (при повреждениях) в их репаративной регенерации. Восстановительные морфогенезы с участием  $\gamma\theta$ -Т-лимфоцитов сопряжены с контролируемые ими неиммунными процессами пролиферации и дифференцировки соматических клеток собственных тканей организма. Репаративная регенерация, также как и иммунная реакция, сопровождается образованием клеток памяти, способных запоминать происходящие в организме морфологические изменения в ответ на повреждающее воздействие, и при его повторном возникновении быстрее и эффективнее на него реагировать.

Согласно нашим представлениям, в целом вся совокупность клонов Т-лимфоцитов памяти в организме составляет полную историю онтогенетически и филогенетически значимых событий, являясь носителем подробной информации обо всех специфических изменениях, в разное время происходивших на уровне отдельных систем и всего организма в целом в процессе его жизнедеятельности, то есть хранит историю всей биологической жизни индивида, включая сведения о его болезнях. Остается только научиться читать эту летопись.

Защитная функция иммунной системы была открыта гораздо раньше морфогенетической в силу того, что проявления иммунных реакций более заметны и легче поддаются анализу с помощью различных методов исследования, поэтому именно с защитой от внешних воздействий обычно и ассоциируется понятие «иммунитет». Безусловно, в борьбе с чужеродными антигенами и патогенами поддержание иммунореактивности организма на должном уровне является жизненно важным свойством иммунной системы. Однако поддержание целостности организма и его систем, контроль роста и физиологической регенерации органов и тканей, то есть поддержание качественного и количественного постоянства тканевых структур не только жизненно необходимо, но и первично по существу. Так, абсолютно незаметно для нас в нашем теле за сутки погибают триллионы клеток, и это гигантское количество постоянно восполняется — за весь период жизни организм человека производит более 10 тонн клеток.

Рассматривая совокупность известных к настоящему времени сведений об особых свойствах лимфоидных клеток и их взаимодействии с органами и тканями, нельзя не выразить восхищение талантом и не воздать дань глубокого уважения выдающемуся российскому ученому, гистологу и эмбриологу, профессору Императорской Военно-медицинской академии

Александр Александровичу Максиму, более чем на 100 лет опередившему процесс познания. Согласно его сенсационному заключению, представленному 1 июня 1909 г. на чрезвычайном заседании Берлинского гематологического общества, «в организме млекопитающих существует один вид клеток — лимфоциты в наиболее широком смысле слова, которые, в зависимости от локализации и условий существования, выглядят по-разному и могут формировать различные продукты дифференцировки. Лимфоциты вездесущи, они повсюду равноценны и не могут быть различимы с позиций гистогенеза или гематогенеза. Это повсеместно встречающиеся, недифференцированные, полиморфные, блуждающие мезенхимные клетки, которые, в зависимости от разнообразия условий их обитания в организме эмбриона, выглядят по-разному и могут производить различные клетки-продукты дифференцировки» [4]. Работа А.А. Максимова не только стала основой учения о стволовых клетках, но и предопределила развитие теории о лимфоцитарной регуляции морфогенеза.

Открытие и экспериментальное обоснование Анной Георгиевной Бабаевой постнатальной морфогенетической функции лимфоидных клеток связано с их способностью реагировать на морфологические изменения в регенерирующих органах, осуществляя органоспецифический контроль роста клеток в организме, то есть регуляцию процессов пролиферации и дифференцировки соматических клеток. Такое свойство лимфоцитов селезенки было обнаружено при адоптивном переносе спленоцитов оперированных мышей неоперированным сингенным реципиентам, в результате чего в организме последних был получен преимущественно органоспецифический морфогенетический ответ [5]. При этом адресная направленность регуляторных механизмов восстановления органа, поврежденного в организме донора, воспроизводилась у интактных реципиентов не только на уровне особенностей восстановительного роста и специфических изменений непосредственно в гомологичном органе, но и на уровне изменения активности и численности тех субпопуляций лимфоцитов, которые обеспечивают стимуляцию или торможение пролиферации клеток этого органа. В дальнейшем было доказано, что к регуляторной морфогенетической функции причастны именно Т-лимфоциты [6, 7].

Под морфогенетической функцией лимфоцитов подразумевается их регуляторное действие в отношении пролиферации и дифференцировки соматических клеток организма на всех этапах онтогенеза, включая эмбриональный рост, физиологическую и репаратив-

ную регенерацию, компенсаторную гипертрофию, а также патологические процессы. И поскольку любая регуляция всегда подразумевает взаимодействие двух противоположных сигналов: усиливающего и ослабляющего, то и в организме в норме регуляция любого процесса осуществляется путем его своевременной стимуляции и своевременного же торможения. Со стороны иммунной системы, согласно нашим представлениям, контроль пролиферации и дифференцировки каждого типа соматических клеток осуществляется с участием двух различных типов лимфоидных клеток:  $CD4^+$  и  $CD8^+$  Т-лимфоцитов, функции которых модулируют регуляторные Т-клетки (Treg).

Морфогенетическая функция Т-лимфоцитов является эволюционно более древней, чем функция защиты от чужеродных веществ и патогенов, обеспечиваемая продукцией антител эволюционно более поздними В-лимфоцитами. Также и функциональное развитие морфогенетических  $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов-хелперов (Th1) в эмбриогенезе начинается намного раньше, чем развитие  $\alpha\beta$ -Т-хелперов, участвующих в регуляции продукции антител (Th2) [8]. Очевидно, что на ранних стадиях эмбрионального развития в первую очередь проявляются максимально выраженные морфогенетические процессы. При этом как клетки эмбриональных тканей, так и сами лимфоидные (стволовые) клетки на этих стадиях, при их адоптивном переносе, практически не вызывают иммунологических реакций отторжения. Это подтверждается рядом исследований, в которых показана возможность лечения диабета путем трансплантации эмбриональной ткани свиньи поджелудочной железы [9], коррекции гемофилии путем трансплантации эмбриональной печени [10], возможность улучшения состояния при почечной недостаточности путем трансплантации эмбриональных клеток-предшественниц почечной ткани [11]. Отсюда следует также и то, что и лежащие в основе иммунных реакций гены и продукты генов главного комплекса гистосовместимости начинают экспрессироваться позже, лишь постепенно придавая эмбриону, затем новорожденному выраженные признаки индивидуальности на молекулярном и клеточном уровнях.

Несмотря на указанную первостепенность проявления морфогенетической функции лимфоидных клеток, и по сей день в публикациях, включая и учебники, можно найти утверждение, что основной задачей иммунной системы является защита организма от вредных веществ, микроорганизмов и патогенов. Заметим мимоходом, что это — один из примеров того, как всего лишь одно недостаточно обоснованное и поэтому абсолютно лишнее слово, регулярно фигурирую-

щее в научном тексте, может на протяжении десятилетий выполнять роль ингибитора развития критической научной мысли.

В настоящем обзоре предлагается подход, согласно которому в многоклеточном организме представители каждого клона морфогенетически компетентных Т-лимфоцитов являются прообразом соматических клеток той или иной ткани-мишени (являющейся, согласно Максимову, дифференцированным потомком первичных лимфоцитоподобных клеток), ее подвижным прототипом, и осуществляют контроль пролиферации и дифференцировки своей ткани-мишени на протяжении всего периода онтогенеза.

В 1986 г. В.И. Донцовым [12] с позиций теории систем и на основе «принципа естественной самоорганизации, обуславливающего интеграцию и согласованную эволюцию системы функционально связанных самореплицирующихся единиц» [13], была обоснована **неизбежность** наличия в многоклеточном организме специализированной клеточной системы, осуществляющей регуляцию пролиферации клеток каждого типа ткани в отдельности. Действительно, при изучении возможностей адоптивного переноса лимфоцитами разных типов повреждения было обнаружено, что, помимо преимущественной органоспецифичности эффектов, воспроизводимых при адоптивном переносе, имеет место также тканеспецифичность их воспроизведения [14–16]. При этом долгое время оставалась невыясненной причина воспроизведения у реципиента различий в особенностях процессов регенерации одного и того же органа, вызванных разного рода повреждающими агентами. Выяснению этого вопроса способствовали исследования [17], в которых была установлена неодинаковая чувствительность клеток гистологически различных тканей в составе печени и гепатоцитов разных стадий дифференцировки к тем или иным повреждающим воздействиям и токсическим веществам. Так, было показано, что частичная гепатэктомия в первую очередь вызывает пролиферацию зрелых гепатоцитов, тогда как гепатоциты средней зоны дольки отвечают на повреждение, вызываемое галактозамином и нитратом свинца, а для клеток желчных протоков особо токсичными являются 4,4'-диаминофенилметан и фуран. Эти сведения позволили объяснить казавшееся загадочным явление точного воспроизведения в организме здоровых реципиентов всех нюансов и последовательности качественно разных морфологических изменений, которые возникают при адоптивном переносе суммарного пула лимфоцитов селезенки доноров, подвергнутых разного рода повреждающим воздействиям. Эти же данные подтверж-



дают и предположение о наличии строгой тканеспецифической направленности действия отдельных клонов морфогенетических Т-лимфоцитов [18].

Однако в организме, помимо дискретных органов и тканей, есть и такие, которые непрерывно покрывают его наружные и внутренние поверхности (например, кожа, слизистые оболочки) или пронизывают весь организм, соединяя его органы и ткани (например, сосуды), являя собой, по всей вероятности, континуум превращений гистологически единой ткани (кровеносный сосуд) с плавно меняющимися дополнительными свойствами по мере удаления от одного органа (и постепенной утратой соответствующих его клеткам рецепторов и антигенов клеточной поверхности) и приближения к другому (с постепенным приобретением рецепторов и антигенов клеточной поверхности последнего), то есть в зависимости от ее местоположения. В частности, именно этим, то есть наличием ряда сходных признаков на клеточной поверхности гистологически различающихся тканей, а также тканей одинакового гистотипа, находящихся в разных органах и частях организма, можно объяснить преимущественную, а не абсолютную тканеспецифичность эффектов, вызываемых морфогенетически активными лимфоцитами. Так, лимфоциты селезенки мышей при двустороннем удалении почек усиливали пролиферацию главным образом клеток эпителия почки у сингенных реципиентов, но также и ретикулоэндотелиальных клеток их печени, не вызывая деления собственно гепатоцитов [19]. Это дает основания предполагать наличие в организме значительно большего количества разных клонов морфогенетических лимфоцитов, чем удвоенное число (тканеспецифические Т-хелперы и Т-супрессоры) разных видов соматических клеток, которых в настоящее время насчитывают более двухсот сорока. Если учесть наблюдаемый в последние полтора десятилетия пересмотр некоторых фундаментальных положений иммунологии, в частности вопросов клональной селекции [20–22], то общее количество клеточных субпопуляций (клонов) в иммунной системе и вовсе трудно оценить, если в их число включить клетки с континуумом состояний дифференцировки и уникальных характеристик, реализуемых в каждый данный момент их жизненного цикла [23, 24].

Свидетельством того, что определенные субпопуляции лимфоидных клеток являются представителями клеток их солидных тканей-мишеней в гуморальной системе организма, служит не только воспроизводимая при адоптивном переносе лимфоцитов органо- и тканеспецифичность проявления их морфогенетической активности у реципиентов, но и прису-

щая Т-лимфоцитам реактивность, сходная с реактивностью их ткани-мишени (экспрессия специфических для ткани-мишени рецепторов) [25–28]. Реакция организма на любое воспринимаемое им количественное или качественное изменение во внутренней или внешней среде предполагает наличие у клеток, отвечающих на это изменение, соответствующих рецепторов. Согласно концепции Дж. Блэлока, иммунная система по чувствительности и эффективности не уступает сенсорным системам организма [29]. Сенсорная реакция системы лимфоидных клеток может быть вызвана любым фактором внутренней среды и любым раздражителем внешней среды, включая и те, которые не могут быть обнаружены нервной системой. Согласно данным Дж. Блэлока и соавт., Т-лимфоциты, в силу большого разнообразия рецепторов на их плазматической мембране, способны осуществлять сенсорное распознавание некогнитивных стимулов и обеспечивать нейроэндокринные адаптивные ответы [30, 31]. К настоящему времени на мембране Т-лимфоцитов обнаружены рецепторы к соматотропному гормону (СТГ), пролактину, гормонам гипофиза, рилизинг-гормонам гипоталамуса, субстанции Р, опиоидным пептидам, гормонам щитовидной и паращитовидных желез, надпочечников, половых желез, поджелудочной железы, а также ко многим биологически активным веществам: вазоактивному интестинальному пептиду, ацетилхолину, гистамину, серотонину, дофамину, простагландинам, фактору роста нервов [25, 26]. Конечно, следует иметь в виду, что не все эти рецепторы и не сразу экспрессируются на одной и той же лимфоидной клетке, а распределены соответствующим образом между по-разному функционирующими популяциями лимфоцитарных клонов, обеспечивая динамическую экспрессию каждого из типов рецепторов, в зависимости от стадии дифференцировки и выполняемых функций. Помимо наличия всевозможных рецепторов, в пользу предлагаемой здесь концепции убедительно свидетельствует способность Т-лимфоцитов синтезировать и секретировать многие биологически активные вещества, включая гормоны и факторы роста [25, 26, 28, 32–34].

Функциональная активность Т-лимфоцитов, в сочетании с их особой чувствительностью к всевозможным воздействиям и обоюдной реактивностью с тканью-мишенью, объясняет как патогенетическую, так и терапевтическую роль этих клеток в развитии или коррекции нарушенных функций организма, подтверждая тем самым, что речь может идти не только об этиологии болезни, но и об этиологии здоровья (И.В. Давыдовский). Например, в последние годы большое

внимание стали уделять роли Т-клеток в патогенезе атеросклероза, поскольку лимфоциты CD4+ всегда обнаруживаются в атеросклеротических бляшках. При этом установлено, что Т-хелперы 1 типа (Th1-клетки) играют проатерогенную роль, а регуляторные Т-лимфоциты (Treg) обладают антиатерогенными свойствами [35]. Множество работ посвящено изучению роли Т-лимфоцитов в развитии заболеваний нервной системы. Так, у детей с генетически обусловленной или приобретенной эпилепсией в очагах повышенной активности мозговой ткани интенсивно накапливаются  $\gamma\delta$ -Т-клетки, продуцирующие IL-17, и их количество положительно коррелирует с тяжестью заболевания, но при этом содержание регуляторных Т-клеток снижено. В эксперименте было установлено, что у мышей с дефицитом  $\gamma\delta$ -Т-клеток или при введении донорских Treg-клеток судорожная активность заметно снижается [36]. Нарушение процесса метилирования РНК в Treg-клетках является одним из звеньев патогенеза воспалительного процесса в толстом кишечнике. У мышей, регуляторные Т-лимфоциты которых искусственно были лишены гена, кодирующего метилтрансферазу-14, в течение нескольких дней развивался спонтанный колит, симптомы которого можно было устранить введением нормальных донорских Treg-клеток [37]. Исследованиями роли Т-лимфоцитов в патогенезе различных гематологических заболеваний было установлено, что в крови больных истинной полицитемией существенно изменяется количество регуляторных Т-лимфоцитов фенотипа CD4+CD25+FOXP3+ [38], что, по мнению авторов, и является основной причиной развития данной патологии. Интересно, что даже физиологические эритроцитозы сопровождаются изменениями в популяции Т-лимфоцитов. При моделировании условий высокогорья, аналогичных нахождению на высоте 6000 метров над уровнем моря, в костном мозге мышей значительно увеличивалось количество Т-хелперов, а в условиях *in vitro* эти Т-клетки активно стимулировали дифференцировку эритроидных клеток-предшественников и пролиферацию эритробластов [39].

В литературе описаны примеры восстановления морфогенетических свойств лимфоцитов не только в случае приобретенных, но и врожденных патологий. Так, было показано, что на Т-лимфоцитах в период активного роста животных повышается число рецепторов к соматотропному гормону, и что при карликовости мышей адаптивный перенос им лимфоцитов нормальных сингенных животных задержку роста ликвидирует [40]. Развитие тяжелой наследственной патологии остеогенеза у грызунов (остеопетроз), со-

провождающейся непрорезыванием нижних резцов, в первые 11 суток после рождения можно предотвратить путем введения лимфоцитов селезенки или костного мозга здоровых животных [41, 42]. При этом перенос лимфоцитов больных животных нормальным сибсам в ранний постнатальный период, наоборот, индуцирует развитие патологии также на всю последующую жизнь [43]. Функция центрального и периферического звеньев эритрона у мышей с генетической макроцитарной анемией восстанавливалась после введения им Т-лимфоцитов здоровых мышей-доноров [44], а такое наследственное заболевание как гемофилия поддавалось коррекции после трансплантации мышам SCID с гемофилией на 8–10-й нед после рождения ксеногенной ткани селезенки 42-дневных эмбрионов свиньи [10].

Таким образом, результаты многочисленных исследований отчетливо демонстрируют наличие Т-лимфоцитарного контроля развития и устранения патологических процессов, одним из которых является эпигенетический механизм контроля пролиферации и дифференцировки клеток. Нами в течение нескольких лет изучалась роль лимфоцитарных РНК в патогенезе нарушений развития эритроидного ростка кроветворения, при этом состояние эритроидного ростка оценивалось по темпу формирования эритробластических островков костного мозга, состоящих из центрально расположенного макрофага и эритроидных клеток разной степени дифференцировки [45–48]. В результате было установлено, что суммарная РНК лимфоидных клеток, выделенных из селезенки крыс через 17 ч после 2% кровопотери, обладает стимулирующим эритропоэз действием, а суммарная РНК, выделенная из лимфоидных клеток через 96 ч после кровопотери, приводит к уменьшению формирования эритробластических островков, снижению показателя повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз и замедлению созревания эритробластов, а также способствует усиленной адгезии лимфоидных клеток к тем островкам, «корона» которых представлена преимущественно созревающими эритробластами [49, 50]. Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что лимфоцитарная РНК обладает такой же морфогенетической активностью, которая присуща клеткам донорского организма в момент выделения из них РНК, и оказывает тот же функциональный эффект, который наблюдается при адаптивном переносе самих клеток в организм реципиента. Интересные данные были получены нами при изучении свойств суммарной РНК Т-лимфоцитов периферической крови больных истинной полицитемией. Было обнаружено, что указанная РНК стиму-

лирует эритропоэз в условиях *in vivo* и *in vitro* намного активнее, чем РНК, выделенная из лимфоцитов здоровых доноров [51, 52].

Наши исследования, помимо высокой эффективности профилактического и лечебного действия суммарных РНК из морфогенетически активных клеток костного мозга, селезенки и тимуса даже при таких сильных повреждающих воздействиях, как ионизирующее излучение [53, 54] и бензолная анемия [55], показали также и то, что лимфоцитарные РНК могут с успехом быть использованы как для ускоренной индукции патологических процессов у лабораторных животных, так и для создания животных моделей заболеваний человека в персонализированной медицине. К примеру, выраженное диабетогенное действие суммарной РНК лимфоцитов селезенки крыс с аллоксановым диабетом было продемонстрировано нами путем ее однократного введения в дозе 15 мкг/кг, вызвавшего у всех подопытных животных гипергликемию, сравнимую с действием более чем 600-кратной дозы самого аллоксана [56].

Неадекватность существующих животных моделей заболеваний человека связана не только с их видовым отличием, но главным образом с тем, что искусственно индуцируемое у здоровых молодых животных моно-заболевание можно лишь весьма условно считать моделью заболевания человека. Развитие одной и той же патологии у разных людей может возникать по разным причинам и происходить по-разному: с разной интенсивностью и последовательностью вовлечения в процесс тех или иных тканей и систем организма, при этом все эти события часто накладываются на ранее существующие отклонения от нормы или другие заболевания. Поликлональность популяции лимфоцитов обеспечивает уникальную способность в кратчайшие сроки воспроизвести у реципиента всю совокупность патологических явлений, свойственных донору [14, 15, 18], а характер повреждения того или иного клона, в силу многообразия клонов, влияет на особенности патогенеза.

Таким образом, функциональное состояние лимфоидных клеток и соотношение их популяций является определяющим в восприимчивости организма к тем или иным этиологическим факторам, так как, к примеру, адаптивный перенос лимфоидных клеток от животных, подвергнутых иммобилизационному стрессу, интактным животным может повысить их резистентность к повреждающим факторам (например, аллоксану) настолько, что они становятся вовсе к нему нечувствительны, или введение суммарной РНК из активированных кровопусканием лимфоцитов селезенки

или клеток костного мозга крысам за 0,5 ч до их сублетального гамма-облучения предотвращает гибель всех животных и развитие у них лучевой болезни [53]. Функциональный статус лимфоидных клеток и соотношение их популяций является определяющим и при нормализации тех или иных патологических состояний (экспериментальные анемии разного генеза, диабет, доброкачественная аденома предстательной железы), обусловленной переносом суммарной РНК лимфоцитов селезенки, тимуса или костного мозга здоровых животных [55, 57, 59]. При этом перенос лимфоидных клеток (или их суммарных РНК) от животных с теми или иными патологическими изменениями здоровым животным вызывает у них ускоренное развитие точно таких же нарушений. Таким образом, можно считать доказанным, что «свойство реагирующего субстрата», которое в обобщенном смысле приравнено И.В. Давыдовским к понятию патогенеза, определяется функциональным состоянием лимфоидных клеток и соотношением их субпопуляций. Приведенные доводы свидетельствуют также и о том, что, обуславливая реактивность организма, лимфоидные клетки в одинаковой мере ответственны как за восприимчивость к этиологическим факторам, так и за нормализацию саногенетических механизмов.

В заключение хочется отметить, что одно дело — наличие многочисленных свидетельств вовлеченности Т-лимфоцитов в патологический процесс, даже и при самых разных недугах, и совсем другое — установление **закономерностей** такого вовлечения. Лимфоциты не просто и не случайно являются важным патогенетическим звеном возникновения и развития патологий: это связано и с закономерным природным процессом мутагенеза, возникающим прежде всего в самой чувствительной и динамичной гуморальной гомеостатической системе организма и являющимся основой эволюционных преобразований и естественного отбора. Закономерность переборки всевозможных вариантов в первую очередь именно среди клеток гуморальной системы обусловлена тем, что в целом кровь представляет собой оперативную подсистему организма. Согласно фундаментальному принципу, сформулированному и развитому В.А. Геодакяном [60, 61], любая эволюционирующая система разделяется внутри себя на оперативную и консервативную подсистемы, которые, образуя бинарно-сопряженные пары, обеспечивают способ асинхронной эволюции системы в целом. При этом в самой гуморальной подсистеме оперативной составляющей являются наиболее чувствительные к всевозможным изменениям клетки, Т-лимфоциты, которые в совокупности своих многочисленных клонов (субпо-

пуляций) обеспечивают интегральный контроль роста и дифференцировки клеток соматических тканей различных гистотипов на протяжении всего периода онтогенеза. Таким образом, любое повреждение или мутация в популяции Т-лимфоцитов (предрасположенность к которой имеет, по-видимому, генетическую основу), опережающая соответствующие изменения в их ткани-мишени, может либо полностью «выбить» какой-нибудь из клонов, либо вызвать его повреждение, что нарушает баланс разновидностей Т-клеток и в конечном итоге приводит к развитию патологии в той или иной системе организма. Поэтому на самых ранних этапах развития заболеваний дефект нужно искать именно в популяции лимфоцитов. Из этого напрямую следует необходимость развития соответствующего профилактического направления в медицине, связанного со скринингом и идентификацией лимфоцитарных клонов пациента и сравнением результатов скрининга с усредненной нормой, полученной на основе клонального анализа Т-лимфоцитов большого числа здоровых доноров.

То, что всевозможные разновидности Т-клеток могут составлять основу патогенеза при аллергических и аутоиммунных заболеваниях, сомнений не вызывает: достаточно, чтобы среди совокупности клонов Т-лимфоцитов оказался клон (или клоны) Т-хелперов с повышенной чувствительностью к какому-либо одному (или нескольким) из всевозможных антигенов и/или клон (или клоны) соответствующих Т-супрессоров с подавленной активностью. Если же, наоборот, среди разновидностей Т-лимфоцитов клон, способный реагировать на определенный тимус-зависимый антиген или класс антигенов, отсутствует, или же его реактивность сильно подавлена, в этом случае может возникнуть ситуация, наблюдаемая, в частности, при лейкозах. Например, при В-клеточном хроническом лимфолейкозе в крови постепенно накапливается все больше и больше моноклональных антигенспецифических В-лимфоцитов в ожидании дополнительного сигнала со стороны соответствующего (и, по-видимому, отсутствующего) клона Т-клеток для запуска процесса синтеза специфического антитела. При этом следует отметить, что подобная патологическая ситуация является в определенной степени случайной: организм может и не встретиться с антигеном, чувствительность к которому в ряду клонов Т-лимфоцитов отсутствует. Поскольку все лейкозы являются моноклональными заболеваниями, то очевидно, что все они — отражение тех или иных клональных дефектов Т-клеток, влияющих на особенности патогенеза. При этом природа таких дефектов вполне объяснима, если учесть, что лим-

фоциты составляют огромную популяцию разнообразных клеточных клонов, наподобие любой популяции живых существ, где отдельные особи могут отличаться особой чувствительностью (вплоть до ее отсутствия) к тем или иным химическим и физическим факторам.

Главный тезис (вывод), вытекающий из предполагаемого принципа организации системы регуляторных клеток и клеток-мишеней, состоит в том, что во многих случаях при самых разных нарушениях, включая даже ряд наследственных и врожденных пороков, нормализация той или иной патологически измененной органной системы может быть достигнута путем коррекции регуляторных свойств лимфоцитов. Это принципиально отличается от общепринятых терапевтических и хирургических подходов в медицине и имеет очевидные технические преимущества, являясь уникальной возможностью достижения желаемого эффекта путем воздействия не на больной орган как таковой, а на подвижные клетки иммунной системы, а в ряде случаев даже являясь альтернативой переливания крови, трансплантации костного мозга или солидного органа. Однако поскольку даже внутривидовой адоптивный перенос лимфоцитов сопряжен с серьезными осложнениями и опасностью для жизни реципиента, мы предлагаем использование столь же эффективного субклеточного субстрата (суммарной РНК лимфоцитов и/или стволовых клеток аллогенной или ксеногенной природы), который можно переносить без учета иммунологической совместимости и видовой принадлежности и который позволит обойти серьезную проблему, связанную с указанными ограничениями.

### Литература

(п.п. 8-11; 17; 20-23; 29-32; 35-39; 41-44; 47 см. References)

1. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. *Общая патофизиология*. СПб.; 2005.
2. Гоженко А.И. *Основы построения теории болезни*. Одесса; 2015.
3. Полетаев А.Б. *Имунофизиология и иммунопатология*. М.; 2008.
4. Максимов А.А. Лимфоцит как общая стволовая клетка различных элементов крови в эмбриональном развитии и постфетальной жизни млекопитающих. *Клеточная терапия и трансплантация*. 2009; 1(3). <http://www.ctjournal.com/ru/archive/tom-1-nomer-3/programmnye-stati/limfotsit-kak-obshchaya-stvolovaya-kletka-razlichnykh-elementov-krovi-v-embriionalnom-razviti-i-post>
5. Бабаева А.Г. Иммунологические реакции в процессах нормального и восстановительного роста. В сб.: *Регенерация и клеточное деление*. М.: Медицина. 1968: 11–6.
6. Бабаева А.Г. *Морфогенетические свойства лимфоцитов и их значение для регенерации органов. Тез. докл. Физиология и патология соединительной ткани*. Новосибирск. 1980; Т. 1: 4–5.
7. Краскина Н.А., Вегер Е.М., Гуторова Н.М., Бляхер М.С., Бабаева А.Г., Харлова Г.В. и др. Контролирующее влияние Т-лимфоцитов-

- супрессоров на пролиферацию клеток в различных тканях. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1988; 105(5): 464-6.
12. Донцов В.И. Применение теории гиперцикла для анализа процессов межклеточной регуляции пролиферации тканей: доказательство существования специализированной клеточной системы регуляции пролиферации тканей. *Успехи современной биологии*. 1986; 101(1): 1-29.
  13. Эйген М., Шустер П. *Гиперцикл: принципы самоорганизации макромолекул*. М.: Мир; 1982.
  14. Белан Е.И., Скальная М.Г. Изменение эритропоэза у нормальных мышей под воздействием перитонеальных клеток, трансплантированных от сингенных доноров с длительной интоксикацией арсеном натрия. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1999; 128(12): 646-9.
  15. Белан Е.И. Динамика изменения способности клеток перитонеального экссудата запускать различные механизмы эритроидной дифференцировки при массивной кровопотере у мышей. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2000; 129(5): 521-4.
  16. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Зотиков Е.А. *Роль лимфоцитов в оперативном изменении программы развития тканей*. М.: Изд-во РАМН. 2009.
  18. Геворкян Н.М., Бабаева А.Г. Вариабельность проявлений морфогенетической функции лимфоцитов в зависимости от характера и локализации повреждения органа. *Вестник РАЕН*. 2012; 12(1): 44-7.
  19. Бабаева А.Г., Гиммельфарб Е.И. Цитогенетические свойства лимфоидных клеток селезенки в ранние сроки после двусторонней нефрэктомии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1997; 126(7): 876-8.
  24. Харченко Е.П. Иммуноэпитопный континуум родства белков, полиреактивность и аутореактивность антител. *Медицинская иммунология*. 2015; 17(4): 335-46.
  25. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Т-лимфоциты и тканевые факторы роста. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2015; 101(8): 865-84.
  26. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Роль Т-лимфоцитов в гормональной регуляции морфогенетических процессов. *Успехи современной биологии*. 2015(6): 135(2): 189-202.
  27. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Современный взгляд на роль Т-лимфоцитов в регуляции эритропоэза. *Успехи современной биологии*. 2016; 136(1): 81-95.
  28. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. О чувствительности Т-лимфоцитов к гормонам адеиногипофиза. *Успехи физиологических наук*. 2017; 48(1): 80-90.
  33. Тишевская Н.В., Бабаева А.Г., Геворкян Н.М. Роль лимфоцитарных РНК в межклеточном информационном обмене и регуляции регенеративных процессов. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2016; 102(11): 1280-301.
  34. Бабаева А.Г., Тишевская Н.В., Геворкян Н.М. *О морфогенетических свойствах РНК лимфоидных и стволовых клеток при восстановительных процессах*. М., 2016.
  40. Мартыненко Ф.П., Шостак И.Н. Влияние соматотропина на образование аутологических розеток тимоцитами гипотиреоидных крыс. *Доклады АН УССР*. 1982; Серия Б. № 2: 67-72.
  45. Тишевская Н.В., Шевяков С.А., Захаров Ю.М. Влияние гуморальных факторов на фагоцитарную активность центральных макрофагов в культуре эритробластических островков. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2002; 88(9): 1191-8.
  46. Тишевская Н.В., Шевяков С.А., Захаров Ю.М. Влияние эритропоэтина и макрофагального колониестимулирующего фактора на пролиферативную активность эритроидных клеток в культурах эритробластических островков. *Медицинский академический журнал*. 2003; 3(3): 67-72.
  48. Тишевская Н.В., Болотов А.А., Захаров Ю.М. Математическое моделирование межклеточных взаимодействий в культуре эритробластических островков. *Медицинский академический журнал*. 2005; 5(4): 50-9.
  49. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Комарова И.А. Влияние препаратов суммарной РНК лимфоидных клеток селезенки крыс на эритропоэз in vitro. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2014; 4(12): 35-9.
  50. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Комарова И.А. Влияние препаратов суммарной РНК лимфоидных клеток селезенки на эритропоэз в культуре эритробластических островков крыс с полицитемией. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2014; 4 (12): 40-3.
  51. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Головкина Л.Л., Муратова И.А., Рагимов А.А. О стимулирующих эритропоэз свойствах суммарной РНК лимфоцитов периферической крови при эритремии. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2015; 1(13): 33-7.
  52. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Головкина Л.Л., Муратова Ю.О., Рагимов А.А. О гемопоэтических свойствах рибонуклеиновой кислоты лимфоцитов периферической крови больных истинной полицитемией и здоровых доноров. *Онкогематология*. 2015; 10(2): 58-62.
  53. Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Болотов А.А. Влияние предварительного введения суммарной РНК клеток костного мозга на динамику восстановления эритропоэза у крыс после острого гамма-облучения. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016; 161(5): 670-3.
  54. Тишевская Н.В., Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Захаров Ю.М. Коррекция постлучевых нарушений эритропоэза суммарной РНК клеток костного мозга и тимуса. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2017; 57(4): 384-90.
  55. Тишевская Н. В., Бабаева А. Г., Геворкян Н. М. Сравнительный анализ гемопоэтической активности суммарной РНК костного мозга и лимфоидных клеток селезенки при хронической бензолной анемии у крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2019; 63(2): 56-64.
  56. Геворкян Н. М., Тишевская Н. В., Бабаева А. Г. О феномене повышенной чувствительности крыс, ранее перенесших диабет, к диабетогенному воздействию суммарной РНК. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2020; 64(2): 85-8. DOI: 10.25557/0031-2991.2020.02.85-88.
  57. Тишевская Н.В., Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Захаров Ю.М. Коррекция постлучевых нарушений эритропоэза суммарной РНК клеток костного мозга и тимуса. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2017; 57(4): 384-90.
  58. Геворкян Н. М., Тишевская Н. В., Бабаева А. Г. Роль суммарных РНК лимфоидных и стволовых клеток в коррекции уровня глюкозы в крови при экспериментальном сахарном диабете. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2019; 63(3): 88-95.
  59. Бабаева А.Г., Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Головнева Е.С., Максакоев Д.А. Регресс экспериментальной гиперплазии предстательной железы под действием лимфоцитарных и органных

- РНК. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2018; 1(25): 61-6.
60. Геодакян В.А. Роль полов в передаче и преобразовании генетической информации. *Проблемы передачи информации*. 1965; 1(1): 105-12.
61. Геодакян В.А. Эволюционная теория пола. *Природа*. 1991; 8: 60-9.

## References

- Zajchik A.S., Churilov L.P. *General pathophysiology. [Obshchaya patofiziologiya]*. Sankt-Peterburg; 2005. (In Russian)
- Gozhenko A.I. *Basics of building a theory of disease. [Osnovy postroeniya teorii bolezni]*. Odessa, 2015. (In Russian)
- Poletaev A.B. *Immunophysiology and immunopathology. [Immunofiziologiya i immunopatologiya]*. Moscow, 2008. (In Russian)
- Maximov A.A. Lymphocyte as a common stem cell of various blood elements in embryonic development and post-fetal life in mammals. *Folia Haematologica* 8 (1909): 125-34. [http://www.cttjournal.com/upload/iblock/c17/ctt\\_1\\_3\\_2009\\_maximov\\_en\\_ru.pdf](http://www.cttjournal.com/upload/iblock/c17/ctt_1_3_2009_maximov_en_ru.pdf)
- Babaeva A.G. *Immunological reactions in the processes of normal and regenerative growth. In: Regeneration and cell division. [Immunologicheskie reaktsii v protsessakh normal'nogo i vosstanovitel'nogo rosta. V sb.: Regeneratsiya i kletchnoe delenie]*. Moscow; Meditsina, 1968: 11-6. (In Russian)
- Babaeva A.G. *Morphogenetic properties of lymphocytes and their importance for organ regeneration. Abstracts of reports. Physiology and pathology of connective tissue. [Morfogeneticheskie svoystva limfotsitov i ikh znachenie dlya regeneratsii organov. Tezisy dokladov Fiziologiya i patologiya soedinitel'noy tkani]*. Novosibirsk. Vol. 1. 1980: 4-5. (In Russian)
- Kraskina N.A., Veger E.M., Gutorova N.M., Blyaher M.S., Babaeva A.G., Harlova G.V., et al. Controlling effect of suppressor T-lymphocytes on cell proliferation in various tissues. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 1988; 105(5): 464-6. (In Russian)
- Latha T.S., Reddy M.C., Durbaka P.V.R., Rachamalla A., Pallu R., and Lomada D. gd T cell-mediated immune responses in disease and therapy. *Frontiers in Immunology*. 2014; 5(Art. 571): 1-11.
- Eventov-Friedman S., Tchorsh D., Katchman H., et al. Embryonic pig pancreatic tissue transplantation for the treatment of diabetes. *PLoS Med*. 2006; 3(7):e215. P. 1165-76.
- Aronovich A., Tchorsh D., Katchman H., et al. Correction of hemophilia as a proof of concept for treatment of monogenic diseases by fetal spleen transplantation. *PNAS*. 2006; 103(50): 19075-80.
- Kim S.S., Park H.J., Han J., Gwak S.J., et al. Improvement of kidney failure with fetal kidney precursor cell transplantation. *Transplantation*. 2007; 83(9): 1249-58.
- Doncov V.I. Application of the hypercycle theory to the analysis of processes of intercellular regulation of tissue proliferation: evidence of the existence of a specialized cellular system for the regulation of tissue proliferation. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 1986; 101(1): 1-29. (In Russian)
- Ejgen M., Shuster P. *Hypercycle: principles of self-organization of macromolecules. [Gipertsikl: printsipy samoorganizatsii makromolekul]*. Moscow; Mir; 1982. (In Russian)
- Belan E.I., Skal'naya M.G. Changes in erythropoiesis in normal mice under the influence of peritoneal cells transplanted from syngeneic donors with prolonged intoxication with sodium arsenite. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 1999; 128(12): 646-9. (In Russian)
- Belan E.I. Dynamics of changes in the ability of peritoneal exudate cells to trigger various mechanisms of erythroid differentiation in massive blood loss in mice. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2000; 129(5): 521-4. (In Russian)
- Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Zotikov E.A. *The role of lymphocytes in the operative change in the program of tissue development. [Rol' limfotsitov v operativnom izmenenii programmy razvitiya tkaney]*. Moscow: RAMS, 2009. (In Russian)
- Sell S. Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells. *Hepatology*. 2001; 33: 738-50.
- Gevorkyan N.M., Babaeva A.G. Variability of manifestations of the morphogenetic function of lymphocytes depending on the nature and localization of organ damage. *Vestnik RAEN*. 2012; 12(1): 44-7. (In Russian)
- Babaeva A.G., Gimmel'farb E.I. Cytogenetic properties of spleen lymphoid cells in the early stages after bilateral nephrectomy. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1997; 126(7): 876-8. (In Russian)
- Cohen I.R., Hershberg U., Solomon S. Antigen-receptor degeneracy and immunological paradigms. *Mol. Immunol*. 2004; Vol. 40: 993-6.
- Parnes O. From interception to incorporation: degeneracy and promiscuous recognition as precursors of a paradigm shift in immunology. *Mol. Immunol*. 2004; 40(14-15): 985-91.
- Cohn M. Degeneracy, mimicry and crossreactivity in immune recognition. *Mol. Immunol*. 2005; 42(5): 651-5.
- Sercarz E.E., Maverakis E.M. Recognition and function in a degenerative immune system. *Mol. Immunol*. 2004; 40(14-15): 1003-8.
- Harchenko E.P. Immunoepitopic continuum of protein affinity, poly-reactivity and autoreactivity of antibodies. *Meditsinskaya immunologiya*. 2015; 17(4): 335-46. (In Russian)
- Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. T-lymphocytes and tissue growth factors. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2015; 101(8): 865-84. (In Russian)
- Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. The role of T-lymphocytes in the hormonal regulation of morphogenetic processes. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2015; 135(2): 189-202. (In Russian)
- Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. Modern view of the role of T-lymphocytes in the regulation of erythropoiesis. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2016; 136(1): 81-95. (In Russian)
- Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. On the sensitivity of T-lymphocytes to hormones of the adenohypophysis. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*. 2017; 48(1): 80-90. (In Russian)
- Blalock J.E. The immune system as a sensory organ. *J. Immunol*. 1984; 132(3): 1067-70.
- Carr D.J., Blalock J.E. From the endocrinology of lymphocytes toward a molecular basis of the network theory. *Horm. Res*. 1989; 31(1-2): 76-80.
- Carr D.J. Neuroendocrine peptide receptors on cells of the immune system. *Neuroimmunoendocrinology. Chem. Immunol*. Karger. Basel. Switzerland, 1992: 84-105.
- Weigent D.A. Expression of lymphocyte-derived growth hormone (GH) and GH-releasing hormone receptors in aging rats. *Cell Immunol*. 2013; 282(2): 71-8.
- Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorkyan N.M. The role of lymphocytic RNAs in intercellular information exchange and regulation of regenerative processes. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2016; 102(11): 1280-301. (In Russian)
- Babaeva A.G., Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M. *About the morphogenetic properties of RNA of lymphoid and stem cells during regenerative processes. [O morfogeneticheskikh svoystvakh RNK limfoidnykh i stvolovykh kletok pri vosstanovitel'nykh protsessakh]*. Moscow: «Gruppa MDV», 2016. (In Russian)

35. Saigusa R., Winkels H., Ley K. T cell subsets and functions in atherosclerosis. *Nat. Rev. Cardiol.* 2020; 17(7): 387-401.
36. Xu D., Robinson A.P., Ishii T., Duncan D.S., Alden T.D., Goings G.E., et al. Peripherally derived T regulatory and gamma-delta T cells have opposing roles in the pathogenesis of intractable pediatric epilepsy. *J. Exp. Med.* 2018; 215(4): 1169-86.
37. Lu T.X., Zheng Z., Zhang L., Sun H.L., Bissonnette M., Huang H., et al. A New Model of Spontaneous Colitis in Mice Induced by Deletion of an RNA m(6)A Methyltransferase Component METTL4 in T Cells. *Cell Mol. Gastroenterol. Hepatol.* 2020; 10(4): 747-61.
38. Zhao W.B., Li Y., Liu X., et al. Involvement of CD4+CD25+ regulatory T cells in the pathogenesis of polycythaemia vera. *Chin. Med. J.* 2008; 121(18): 1781-6.
39. Li P., Zheng S.J., Jiang C.H., et al. Th2 lymphocytes migrating to the bone marrow under high-altitude hypoxia promote erythropoiesis via activin A and interleukin-9. *Exp. Hematol.* 2014; 42(9): 804-15.
40. Martynenko F.P., Shostak I.N. Effect of growth hormone on the formation of autologous rosettes by thymocytes in hypothyroid rats. *Doklady AN USSR. Seriya B. 2.* 67-72. (In Russian)
41. Marks S.C. Jr. Pathogenesis of Osteopetrosis in the ia rat: reduced bone resorption due to reduced osteoclast function. *Am. J. Anat.* 1973; 38: 165-89.
42. Marks S.C. Jr. Studies of the cellular cure for osteopetrosis by transplanted cells: specificity of the cell type in rats. *Am. J. Anat.* 1978; 151(1): 131-7.
43. Walker D.G. Bone resorption restored in osteopetrotic mice by transplants of normal bone marrow and spleen cells. *Science.* 1975; 190(Issue 4216): 784-5.
44. Sharkis S.J., Wiktor-Jedrzejczak, A. Ahmed, G. W. Santos, A. McKeen, K. W. Sell. Antitheta-sensitive regulatory cell (TSRC) and hematopoiesis: Regulation of differentiation of transplanted stem cells in W/Wv anemic and normal mice. *Blood.* 1978; 52(4): 802-17.
45. Tishevskaya N.V., Shevyakov S.A., Zakharov Yu.M. The influence of humoral factors on the phagocytic activity of central macrophages in the culture of erythroblastic islets. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova.* 2002; 88(9): 1191-8. (In Russian)
46. Tishevskaya N.V., Shevyakov S.A., Zakharov Yu.M. Effect of erythropoietin and macrophage colony-stimulating factor on the proliferative activity of erythroid cells in erythroblastic islet cultures. *Meditsinskiy akademicheskii zhurnal.* 2003; 3(3): 67-72. (In Russian)
47. Tishevskaya N.V., Zakharov Yu.M., Golubovskii E.V., Kolesnikov O.L., Trofimova N.V., Arkhipenko Yu.V., et al. Effects of fullereneol C60(OH)24 on erythropoiesis in vitro. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2014; 157(1): 49-51.
48. Tishevskaya N.V., Bolotov A.A., Zakharov Yu.M. Mathematical modeling of intercellular interactions in the erythroblastic islets culture. *Meditsinskiy akademicheskii zhurnal.* 2005; 5(4): 50-59. (In Russian)
49. Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Komarova I.A. The effect of rat spleen lymphoid cell total RNA preparations on in vitro erythropoiesis. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya.* 2014; 4(12): 35-9. (In Russian)
50. Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Komarova I.A. Influence of preparations of spleen lymphoid cell total RNA on erythropoiesis in culture of erythroblast islets of polycythemic animals. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya.* 2014; 4(12): 40-3. (In Russian)
51. Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Golovkina L.L., Muratova Ju.O., Ragimov A.A. Erythropoiesis-stimulating properties of total RNA from peripheral blood lymphocytes during erythremia. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya.* 2015; 1(13): 33-7. (In Russian)
52. Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Golovkina L.L., Muratova Ju.O., Ragimov A.A. On the hematopoietic properties of ribonucleic acid of peripheral blood lymphocytes in patients with true polycythemia and healthy donors. *Oncogematologiya.* 2015; 10(2): 58-62. (In Russian)
53. Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Bolotov A.A. Effect of preliminary administration of total RNA of bone marrow cells on the dynamics of erythropoiesis recovery in rats after acute gamma irradiation. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2016; 161(5): 670-3. (In Russian)
54. Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Zakharov Y.M. Correction of post-radiation disorders of erythropoiesis with the total RNA of bone marrow and thymus cells. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya.* 2017; 57(4): 384-90. (In Russian)
55. Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorkyan N.M. Comparative analysis of hematopoietic activity of total RNA of bone marrow and lymphoid cells of the spleen in chronic benzene anemia in rats. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2019; 63(2): 56-64. (In Russian)
56. Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Babaeva A.G. On the phenomenon of hypersensitivity of rats with previous alloxan diabetes to the diabetogenic effect of total RNA. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2020; 64(2): 85-8. (In Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2020.02.85-88
57. Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Zaharov Yu.M. Correction of post-radiation disturbances in erythropoiesis of total RNA of 90bone marrow and thymus cells. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya.* 2017; 57(4): 384-. (In Russian)
58. Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Babaeva A.G. The role of lymphoid and stem cell total RNAs in correction of blood glucose levels in experimental diabetes mellitus. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2019; 63(3): 88-95. (In Russian)
59. Babaeva A.G., Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Golovneva E.S., Maksakov D.A. Regression of experimental benign prostatic hyperplasia under the influence of lymphocytic and organ RNA. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya.* 2018; 1(25): 61-6. (In Russian)
60. Geodakyan V.A. The role of sexes in the transmission and transformation of genetic information. *Problemy peredachi informatsii.* 1965; 1(1): 105-12. (In Russian)
61. Geodakyan V.A. Evolutionary theory of sex. *Priroda.* 1991; (8): 60-9. (In Russian)

**Сведения об авторах:**

**Геворкян Нина Михайловна**, науч. сотр. лаб. биосинтеза белков НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАН, e-mail: gevorgiann@yandex.ru;

**Тишевская Наталья Викторовна**, доктор мед. наук, проф. каф. нормальной физиологии им. акад. Ю.М. Захарова Южно-Уральского государственного медицинского университета.

© Шарипова М.М., 2021

УДК 616-092

Шарипова М.М.

## Сравнительная эффективность физиотерапевтической и лекарственной дотации микроэлементов при репаративной регенерации кожи

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, 127473, Москва, Россия, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

Проведено сравнительное изучение влияния двух богатых микроэлементами растительных препаратов и облучения лампами плогого катода (ЛПК), содержащими спектры магния и меди — ЛПК Mn&Cu в экспериментальной модели репаративной регенерации кожи. Наносимая на поверхность раны смесь препаратов Метосепт и Витанорм и их пероральное введение в дозах 40-60 мг/крысу на 30% ускоряет репаративную регенерацию кожи за счёт увеличения количества дендритных клеток и макрофагов в очаге воспаления. Ежедневное 2-минутное облучение ЛПК Mn&Cu приводило к положительному изменению динамики морфологических характеристик процесса регенерации кожных ран, ускорению дифференцировки эпителиальных клеток и также к 30%-му ускорению заживления ран. Сравнительное изучение эффективности излучения пяти фототерапевтических аппаратов показало, что уменьшение площади раневой поверхности быстрее всего происходило под влиянием магнитолазерного воздействия аппаратом «Орион+», 2-е место по этому показателю разделили аппараты «Минитаг» и ЛПК Zn&Mn, 3-е — ЛПК Zn и «Биоптрон».

**Ключевые слова:** регенеративная медицина; посттравматическая репаративная регенерация; кожа; микроэлементы; фитопрепараты; спектральная фототерапия

**Для цитирования:** Шарипова М.М. Сравнительная эффективность физиотерапевтической и лекарственной дотации микроэлементов при репаративной регенерации кожи. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2021; 65(2): 120-126.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.120-126

**Для корреспонденции:** Шарипова Майсият Магомедовна, канд. мед. наук, ассистент каф. нервных болезней, e-mail: maisiyat@bk.ru

**Финансирование.** Работа не имела спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов

Поступила 29.01.2020

Принята к печати 25.03.2021

Опубликована 30.06.2021

Sharipova M.M.

### Comparative efficiency of physiotherapeutic and medicinal treatment of microelements during reparative skin regeneration

A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry,  
Delegatskaya St, 20, Bldg. 1, Moscow 127473, Russian Federation

A comparative study was conducted of the effect of herbal preparations and irradiation with hollow cathode lamps (HCL) producing magnesium and copper spectra, i.e., the Mg & Cu HCL, in an experimental model of reparative skin regeneration. A mixture of two micronutrient-rich drugs, Metosept and Vitanorm, were applied to the surface of the wound. Their oral administration in doses of 40-60 mg/rat accelerated the reparative skin regeneration by 30% by increasing the number of dendritic cells and macrophages in the focus of inflammation. Daily 2-min irradiation of the Mg & Cu HCL had a positive effect on the dynamics of the morphological characteristics of the skin wound regeneration process. There occurred an acceleration of epithelial cell differentiation, and also a 30% acceleration of wound healing. A comparative study of the radiation efficiency of five phototherapy devices showed that the wound surface reduction most quickly occurred during treatment with the magnetic laser "Orion+" apparatus. The 2nd most effective treatment was Minitag and HCL Zn & Mg, and the 3rd most effective was HCL Zn and Bioptron.

**Keywords:** regenerative medicine; post-traumatic reparative regeneration; skin; microelements; herbal remedies; spectral phototherapy



**For citation:** Sharipova M.M. Comparative efficiency of physiotherapeutic and medicinal treatment of microelements during reparative skin regeneration. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(2): 120-126. (in Russian)

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2021.02.120-126

**For correspondence:** *Marcijat M. Sharipova*, candidate of medical science, e-mail: maisiyat@bk.ru

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The author declares that there is no conflict of interest.

Received 29.01.2020

Accepted 25.03.2021

Published 30.06.2021

## Введение

Исследования в области современной регенеративной медицины ориентированы в основном на создание клеточных продуктов и разработку тканеинженерных технологий для замещения пострадавших тканей и органов [1, 2]. Подобный односторонний подход справедливо критикуется компетентными экспертами в области регенеративной медицины. Сотрудник Питтсбургского института регенеративной медицины и заместитель главного редактора журнала *Regenerative Medicine* проф. S. Vadyak, отмечая ряд нерешённых и труднопреодолимых проблем в этой области, указывает, что лучшей стратегией является обращение к ресурсам самого организма, поиск и применение биологических сигналов, управляющих регенерацией [3]. Того же мнения придерживается академик РАН директор Института регенеративной медицины МГУ В.А. Ткачук, который в одном из своих интервью говорил, что вместо паллиативного решения проблемы в виде тканевой инженерии предпочтительнее регулировать естественную регенерацию клеток внутри организма [4]. Президент Общества регенеративной медицины, генеральный директор биофармацевтической корпорации «Human Genome Sciences» W. Haseltine отмечает, что высокотехнологичные методы применения стволовых клеток и замена повреждённых органов на созданные тканевой инженерией должны применяться в случаях, когда восстановления нормальной функции органа не удаётся добиться путём использования природных веществ и внешних регуляторов репаративной регенерации тканей [5].

Доминирующий ныне вектор на использование клеточных и тканеинженерных технологий отразился в искажении исходного понимания регенеративной медицины, краткая формулировка которой сводится к тому, что она призвана заменять или регенерировать клетки, ткани или органы человека с целью восстановления их нормальной функции [6]. Исходя из семан-

тического поля термина «регенеративная медицина» и её определения<sup>1</sup>, это научно-практическое направление не должно ограничиваться использованием стволовых клеток и тканевой инженерии, как это происходит в настоящее время. Целесообразен поиск и разработка иных средств и методов, ускоряющих и оптимизирующих репаративную регенерацию повреждённых органов и тканей.

К числу таковых можно отнести использование дотации дефицитных химических элементов, в частности эссенциальных микроэлементов (МЭ), участвующих в жизнеобеспечении биологических объектов. Их дефицит влияет на все витальные процессы на всех этапах онтогенеза — от эмбрионального развития до старческого возраста, сопутствует абсолютно всем патологическим состояниям [7-9]. На фоне роста внедрения медицинской биоэлементологии в клиническую медицину ощущается относительно малое число её экспериментальных обоснований. Роли обмена МЭ в регенеративной медицине посвящены единичные исследования [10], а в отношении состояния кожи они ограничиваются в основном решением косметологических проблем [11].

**Цель** сообщения — обоснование целесообразности дотации микроэлементов (применение фитопрепаратов, спектральная фототерапия) для ускорения процесса репаративной регенерации кожи.

Традиционно восполнение дефицита микроэлементов (МЭ) в организме осуществляется путём их введения *per os*, реже — парентерально. Имеется множество одинарных и комплексных фармакологических препаратов, содержащих МЭ и витамины. Приём монопрепаратов должен проводиться под врачебным контролем, при наличии строгих показаний, т.к. при их использовании чрезвычайно высока опасность передозировки, несбалансированного поступления одних МЭ, что приводит к нарушению обмена других. Кро-

<sup>1</sup>Приказ МЗ РФ № 281 «Об утверждении научных платформ медицинской науки» от 30.04.2013 г.

ме того, эти препараты разработаны не для всех МЭ. Комплексные препараты назначают при недостатке нескольких МЭ или при неустановленной причине нарушения минерального обмена. Препараты, обеспечивающие 100% суточной потребности в минеральных веществах, преимущественно используются для лечения глубоких нарушений обмена МЭ и профилактики развития этих нарушений при скудном или однообразном питании. Коррекция минерального обмена проводится длительно, в течение нескольких месяцев, иногда и дольше. Естественным источником МЭ являются растения, которые используются как в натуральном виде, так и в виде сырья для производства препаратов [7].

Одним из наиболее богатых по содержанию микро- и макроэлементов является фитопрепарат Витанорм, в состав которого входят железо, сера, цинк, селен, йод, кальций, фосфор, бор, калий, магний, марганец, медь, хром, а также витамины А, D<sub>3</sub>, С, Е, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>. Его рекомендуется принимать в сочетании с препаратом Метосепт, содержащим кремний, кобальт, ванадий, молибден, цинк, селен и ряд других компонентов, обеспечивающих его противовоспалительное, противовирусное, противомикробное и противомикозное действие [12]. Однако для нормализации обмена МЭ пероральный путь введения препаратов часто мало эффективен, что обуславливает разработку новых подходов к их использованию.

Предложен и запатентован кожно-резорбтивный метод ранней диагностики и лечения разнообразных заболеваний, основанный на чрескожном транспорте МЭ<sup>2</sup>. Этот метод, как и пероральный приём препаратов представляют собой лекарственную дотацию МЭ.

**Лекарственная дотация МЭ.** Влияние лекарственной дотации МЭ изучали на экспериментальной модели посттравматической регенерации кожи. Самцам крыс Вистар массой 180–200 г в межлопаточной области иссекали полнослойный кожный лоскут площадью 25 мм<sup>2</sup>. В качестве лекарственной дотации МЭ использовали смесь препаратов Витанорм и Метосепт [13] путём её ежедневного перорального введения и нанесения на область раневой поверхности. Использованы 4 группы животных по 30 особей в каждой: 1-я группа – контроль, животным 2-й и 3-й групп перорально вводили препараты в дозах 4-6 и 40-60 мг/крысу соответственно, животным 4-й группы – препараты наносили на раневую поверхность.

Оценка площади раневой поверхности показала, что в контрольной группе рана заживала в среднем на

14-е сут. Ускорение заживления было наиболее выраженным при нанесении препаратов на поверхность ран. В этом случае уже на 2-е постоперационные сутки наблюдалась значительная контракция раны и отечности вблизи неё. Полное заживление ран происходило на 7-е – 8-е сут, то есть статистически значимо раньше, чем в контрольной группе.

Важную роль в процессах заживления ран играет местная иммунная система кожи, дендритные клетки и макрофаги, количество которых значительно увеличивается при воспалении. Было установлено, что в коже животных контрольной группы небольшое количество дендритных клеток начинало выявляться только на 14-е сут после нанесения раны, тогда как в 3-й и 4-й опытных группах они обнаруживались уже на 2-е сут, достигая максимального количества на 8-е – 14-е сут. Макрофаги в контрольной группе животных обнаруживались с 8-х сут, тогда как в опытных группах – уже со 2-х сут после моделирования раны. Подобно дендритным клеткам, наибольшее количество макрофагов выявлено в 3-й и 4-й опытных группах на 8-е и 14-е сут.

Таким образом, вещественная дотация МЭ путём комплексного применения препаратов Метосепт и Витанорм существенно ускоряет репаративную регенерацию кожи за счёт увеличения количества дендритных клеток и макрофагов в очаге воспаления [14].

Применение смеси Метосепта и Витанорма более эффективно по сравнению с использованием в такой же экспериментальной модели нанесения на рану хитозана [15].

**Физиотерапевтическая дотация МЭ.** Давно известно, что различные участки видимого спектра отличаются по характеру действия на макрофизиологические показатели всех основных систем организма. В 80-е годы XX века стали появляться публикации о влиянии различных участков светового спектра на субклеточные и молекулярные структуры. Согласно концепции гетерогенности физиотерапии, специфичность реакций организма наиболее отчетливо проявляется при применении низкоинтенсивных факторов, преимущественно при их локальном действии на зоны кожи, имеющие детерминированные, устойчивые связи с различными внутренними органами и системами организма. Использование лечебных факторов малой и сверхмалой мощности рассматривается как информационное воздействие [12]. К числу таких воздействий относится спектральная фототерапия (СФТ), основанная на использовании ЛПК, резонансную линию излучения которых предварительно задают путем выбо-

<sup>2</sup>Способ Рукина воздействия на биологически активные точки. Патент 2252741, РФ; 2005

ра материала их катодов. Мощность излучения наиболее интенсивных атомных спектральных линий не превышает 2 мкВт. Возможности целенаправленного влияния различных частей светового спектра химических элементов на обмен МЭ при облучении биологически активных точек кожи были запатентованы в 2003 г. Позже был проведен ряд экспериментальных исследований, направленных на доказательство эффективности СФТ для повышения регенерационной способности кожи и изучение влияния ЛПК на чрескожный фотопорез металлов.

Исследование влияния низкоэнергетического излучения ЛПК-Mn&Cu на посттравматическую регенерационную способность кожи проводили на самцах крыс Вистар массой 180–200 г. Животным в межлопаточной области иссекали полнослойный кожный лоскут площадью 25 мм<sup>2</sup>. Область раневого дефекта облучали ежедневно в течение 30 с на протяжении 2 нед. Через 15 сут у животных опытной группы раны были очищены от струпа, рубец полностью эпителизирован и покрыт волосным покровом (визуальные наблюдения) в отличие от необлученных животных, у которых струп сохранялся до 24 сут.

Анализ гистологических данных показал, что в отличие от крыс контрольной группы под действием облучения через 15 сут увеличивается количество волосных луковиц и сальных желез, уменьшается число кровеносных сосудов и появляется горизонтальная ориентация коллагеновых волокон. Иммуногистохимически с помощью антител к маркеру дендритных клеток ОХ-62 наибольшее количество дендритных клеток выявлено в дерме облученных крыс на 15-е сут. В контрольной группе число этих клеток было существенно ниже. При иммунофенотипировании кератинов на 15-е сут после нанесения раны у контрольных необлученных животных выявлен высокий уровень клеток, экспрессирующих различные типы кератинов, распределенных в большей части эпидермиса. В опытной группе их количество было значительно ниже и сосредоточено ближе к наружной части эпидермиса. Число клеток, содержащих кератин 19, было через 15 сут больше после воздействия ЛПК-Mn&Cu по сравнению с контролем. Исследования доказали, что излучение спектра и меди и марганца стимулирует врожденный иммунитет, ускоряет восстановление дермы, эпителиального покрова кожи и ее производных и стимулирует заживление ран [16].

Эффективность СФТ существенно повышается при предварительном нанесении на кожу растворов солей химических элементов, спектры которых излучаются ЛПК. В исследовании с участием ограничен-

ного контингента здоровых добровольцев определяли изменения содержания марганца и меди в системном кровотоке под влиянием 60-секундной экспозиции ЛПК Mn&Cu на поверхность кожи обработанной 1% растворами хлоридов данных химических элементов. Было установлено, что это воздействие приводит к кратковременному повышению концентрации Mn и Cu в системном кровотоке. В течение 1 мин содержание Mn возрастало более чем на 120%, а Cu приблизительно на 60% от исходных уровней. В течение последующих 25 минут содержание Cu снижалось до исходного уровня, а Mn оставалось на уровне, превышающем исходный на 40%. Кратковременность эффекта дотации МЭ вероятно обусловлена их поглощением в тканях, а различия в его длительности эффекта — разной степенью исходного дефицита Mn и Cu в организме [17].

Исследования в этом направлении были продолжены на животных. Самцы крыс линии Вистар массой 180–200 г. были разделены на 7 групп в соответствии с режимом воздействия изучаемых факторов. Растворы определенных солей в объеме 0,5 мл наносили на кожу (площадь воздействия 25 мм<sup>2</sup>) в межлопаточной области в проекции шейно-грудного отдела позвоночника. Животных 1-й группы обрабатывали 1% раствором MnCl<sub>2</sub> и 0,3% раствором CuCl<sub>2</sub>, смешанными с глицерином в соотношении 1:4. Животных 2-й группы обрабатывали этим же раствором, смешанным в равных количествах с водой Мертвого моря, содержащей широкий спектр макро- и микроэлементов, в том числе Mn, K, Na, Ca и Mg. Животных 3-й группы подвергали воздействию ЛПК Mn&Cu с экспозицией 30 с. Кожу животных 4-й группы сначала обрабатывали раствором солей Mn и Cu, а затем подвергали воздействию той же ЛПК с той же экспозицией. Животных 5-й группы обрабатывали раствором солей Mn и Cu, смешанным с водой Мертвого моря, после чего сначала воздействовали ЛПК Mn&Cu, а затем ЛПК K&Na&Ca&Mg по 30 с каждой. Животных 6-й группы обрабатывали этими же растворами, после чего воздействовали ЛПК AI&K&Na&Ca&Mg. Животных 7-й группы обрабатывали водой Мертвого моря и воздействовали ЛПК K&Na&Ca&Mg. У всех крыс забирали кровь из хвостовой вены (1 мкл крови смешивали с 1 мл дистиллированной воды) до и через 2, 15 и 30 мин после облучения или нанесения растворов солей и измеряли в ней уровень Mg, Cu, K, Na, Ca, Mg.

Облучение ЛПК Mn&Cu после предварительной обработки кожи солями этих элементов вызывает 2-кратное увеличение уровня Mn. Последовательное облучение ЛПК Mn&Cu и ЛПК K&Na&Ca&Mg после обработки крыс растворами солей Mn и Cu и во-

дой Мертвого моря приводит к увеличению концентрации Mn в 17,5 раза. Значительное увеличение уровня Mn в сыворотке крови крыс 5-й группы может быть связано с его проникновением через кожу под воздействием ЛПК не только из раствора MnCl<sub>2</sub>, но и из воды Мертвого моря, содержащей достаточно высокую концентрацию Mn (4000-7100 мкг/л). Таким образом, локальное воздействие линейчатым спектром определенных химических элементов модулирует миграцию ионов металлов из растворов солей через кожу в организм. При этом эффект ЛПК на миграцию макро и микроэлементов зависит, по-видимому, от исходного состояния животных: метаболических процессов, иммунного и нейроэндокринного статуса, состава принимаемой пищи, сезона и ряда других причин [18].

Можно предполагать, что излучение ЛПК Mn&Cu модулирует миграцию и накопление ионов марганца и меди в организме, которые могут, по-видимому, образовывать комплексы с металлопротеиназами. Это предположение подтвердилось данными исследований [19], в которых *in vitro* было показано, что излучение ЛПК, в состав катода которой входят марганец, медь и ванадий могут оказывать модифицирующее действие на активность иммобилизованных ферментных систем, принимающих участие в метаболизме углеводов и липидов.

Фототерапия с давних времён и до настоящего времени является весьма популярным подходом к лечению ран. Наиболее эффективными фототерапевтическими аппаратами являются лампы «Биоптрон», аппарат «Орион+» [20] и аппарат «Минитаг» [21]. От-

сутствие данных о сравнительной эффективности этих аппаратов побудило к проведению специального исследования в одинаковых экспериментальных условиях. Полученные результаты показали, что излучения аппаратов «Биоптрон», «Минитаг», «Орион+» и ЛПК приводят к существенному ускорению заживления экспериментальных ран в среднем на 30%. Контактирование раневой поверхности быстрее всего происходила под влиянием наиболее мощного магнитолазерного воздействия аппаратом «Орион+». Второе место по этому показателю разделяют аппараты «Минитаг» и ЛПК Zn&Mn, а третье – ЛПК Zn и «Биоптрон». [22].

Необходимо подчеркнуть, что приведенные данные по оценке эффективности аппаратов справедливы лишь в формате данных экспериментальных условий, в которых использовались одинаковые для всех экспозиции, не всегда совпадающие с указанными в инструкциях по их применению. Более высокая эффективность ЛПК Zn&Mn по сравнению с ЛПК Zn вероятно обусловлена сочетанием активации цинксодержащих эндопептидаз, которые являются основными ферментными системами, способствующими заживлению ран [23-26]. Из всех исследованных аппаратов минимальной мощностью излучения характеризуются ЛПК. Мощность их излучения при приблизительно одинаковом с аппаратом «Биоптрон» в спектральном интервале длин волн видимого света (400–760 нм) на наиболее яркой выделенной спектральной линии типового элемента лампы измеряется сотыми долями мкВт (у Биоптрона – 40 мВт). Поэтому, в соответствии с современными тенденциями

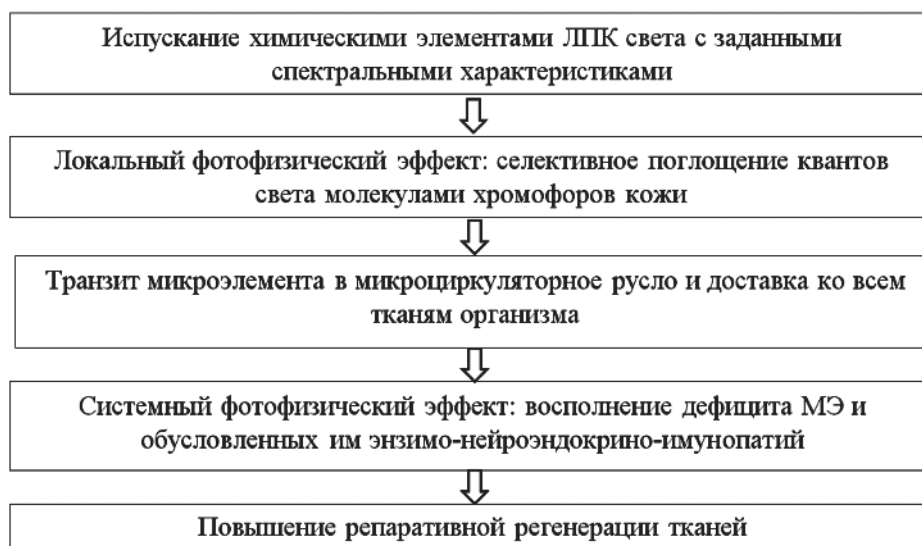


Схема механизма действия спектральной фототерапии на репаративную регенерацию тканей.

преимущественного использования факторов малой и сверхмалой интенсивности использование ЛПК представляется весьма перспективным.

Сопоставление результатов собственных исследований [14, 16, 17, 18, 22, 27, 28] свидетельствует, что физиотерапевтическая и лекарственная дотация МЭ обеспечивает одинаковое ускорение посттравматической регенерации кожи приблизительно на 30%. В отношении механизмов лекарственной дотации имеется ряд литературных данных [9, 11, 15, 20, 21], механизмы действия физиотерапевтической дотации остаются пока на стадии изучения. На основании собственных результатов и данных литературы предлагается гипотетическая схема механизма действия ЛПК на репаративную регенерацию тканей (**рисунок**).

Вариант смешанной физиотерапевтической и лекарственной дотации в виде предварительного нанесения растворов солей МЭ с последующим облучением ЛПК обеспечивает существенно более выраженное повышение содержания МЭ в периферической крови по сравнению с вариантом одной физиотерапевтической дотации. Сравнительное изучение влияния излучения 5 фототерапевтических аппаратов показало, что контракция экспериментальной раны быстрее всего происходила под влиянием магнитолазерного воздействия аппаратом «Орион+», 2-е место по этому показателю разделили аппараты «Минитаг» и ЛПК Zn&Mn, 3-е — ЛПК Zn и «Биоптрон».

### Заключение

Регенерация тканей является общим саногенетическим процессом практически при всех заболеваниях. Поэтому СФТ имеет широкий спектр показаний не только в различных областях клинической медицины, но и в спортивной медицине, курортологии, медицинской профилактике и реабилитации. Наиболее перспективным для практической медицины представляется комплексное применение физиотерапевтической и лекарственной дотации МЭ.

### Литература

(п.п. 3; 5; 6; 24-26 см. References)

1. Зорин В.Л., Зорина А.И., Черкасов В.Р. Анализ зарубежного рынка регенеративной медицины. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2009; 4 (3): 68-78.
2. Бутнару Д.В., Тимашев П.С., Жарикова Т.М., Сушенцев Н.А. Научно-образовательная стратегия Института Регенеративной Медицины. *Медицинское образование и вузовская наука*. 2017; 2(10): 23-5.
4. Ткачук В.А. Развитие регенеративной медицины не решит проблем, а прибавит их. *В мире науки*. 2017. Available at: [https://](https://scientificrussia.ru/articles/razvitie-regenerativnoj-meditsiny)

[scientificrussia.ru/articles/razvitie-regenerativnoj-meditsiny](https://scientificrussia.ru/articles/razvitie-regenerativnoj-meditsiny) (Accessed 31 October 2018)

7. Панченко Л.Ф., Маев И.В., Гуревич К.Г. *Клиническая биохимия микроэлементов*. М.: ГОУ ВУНМЦ; 2004.
8. Скальный А.В., Рудаков И.А., Нотова С.В. Скальный В.В., Бурцева Т.И., Баранова О.В. и др. *Биоэлементология: основные понятия и термины*. Оренбург: ГОУ ОГУ; 2005.
9. Кудрин А.В. Громова О.А. *Микроэлементы в неврологии*. М.: ГЭ-ОТАРМед; 2006.
10. Накоскин Л.Н., Новиков М.И. Содержание макро и микроэлементов в онтогенезе и в условиях репаративной регенерации кости у собак. *Травматология и ортопедия России*. 2008; 1(47).
11. Парфенова И.А. Микроэлементы в программах коррекции эстетических проблем лица и тела. *Мезотерапия*. 2010; 3 (11). <https://www.martindex.ru/publications/meso-journal/meso11/use-of-trace-elements-in-meso.html>
12. Пономаренко Г.Н. *Физические методы лечения*. 4-е изд. СПб.: Санкт-Петербург; 2011.
13. Погорельская Л.В. *Клиническое применение Метосента и Вита-норма*. Учебное пособие РМАПО. М.: 2005.
14. Аксенова В.И., Шарипова М.М., Извольская М.С. и др. Влияние фитопрепаратов на гуморальный иммунный ответ. *Вестник восстановительной медицины*. 2012; 6: 19-21.
15. Довгилева О.М., Хомулло Г.В., Петрова М.Б. Основные особенности репаративной регенерации кожи в условиях применения хитозана. *Верхневолжский медицинский журнал*. 2011; 9 (3,11): 30-7.
16. Мельникова В.И., Извольская М.С., Воронова С.Н. Шарипова М.М. и др. Репаративная регенерация тканей кожи крысы под действием излучения лампы полого катода с линейчатый спектром марганца и меди. *Цитология*. 2010; 52 (3): 203-10.
17. Рукин Е.М., Извольская М.С., Воронова С.Н., Шарипова М.М. Чрескожный фотофорез ионов металлов с использованием излучателей линейчатого спектра химических элементов. *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2010; 149 (4): 368-71.
18. Рукин Е.М., Мигунов С.А., Садагов Ю.М., Творогова А.В. Шарипова М.М. Коррекция и экспресс-анализ микроэлементов в спектральной фототерапии. *Микроэлементы в медицине*. 2008; 9 (3-4): 76-8.
19. Пузырева Г.А. *Экспериментальное исследование механизмов биологического действия спектральной фототерапии*: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук. М.; 2010.
20. Волотовская А.В., Улащик В.С., Мумин А.Н. Новые методики лечения трофических язв и ран, основанные на воздействии лазерного излучения повышенной интенсивности. *Медицинские новости*. 2005; 12: 84-5.
21. Садовников В.Б., Чемерис Н.К., Гапеев А.Б. Бессонов А.Е. и др. Влияние модулированного широкополосного излучения, генерируемого терапевтическим аппаратом «Минитаг» и непрерывного электромагнитного излучения крайне высоких частот на регенерацию полнослойных кожных ран у лабораторных мышей. *Вестник новых медицинских технологий*. 2003; 1: 14-5.
22. Шарипова М.М., Воронова С.В., Рукин Е.М., Василенко А.М. Сравнительная оценка ранозаживляющих эффектов при использовании аппаратов «Биоптрон», «Минитаг», «Орион+» и ламп полого катода. *Вопросы курортологии, физиотерапии и ЛФК*. 2011; 4: 42-5.
23. Воронкина И.В., Кокорин К.В., Чуликов О.В. и др. Матриксные металлопротеиназы ММП-2 и ММП-9 раневых и ожого-

- вых экссудатов и их действие на белки внеклеточного матрикса. *Цитология*. 2003; 45 (1): 43–50.
27. Рукин Е.М., Творогова А.В., Мигунов С.А., Шарипова М.М., Василенко А.М. Спектральная фототерапия. *Медицинская технология*. ФС№2010/120 от 02.04.2010.
  28. Шарипова М.М. Спектральная фототерапия в восстановлении микроэлементного баланса. *Микроэлементы в медицине*. 2008; 9(12): 42–3.
- ### References
1. Zorin V.L., Zorina A.I., Cherkasov V.R. *Analysis of the foreign market of regenerative medicine. Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2009; 4 (3): 68–78. (in Russian)
  2. Butnaru D.V., Timashev P.S., Zharikova T.M., Sushhentsev N.A. *Scientific and educational strategy of the Institute of Regenerative Medicine. Meditsinskoe obrazovanie i vuzovskaya nauka*. 2017; 2 (10): 23–5.
  3. Badylak S. Perspective: Work with, not against, biology. *Nature*. 2016; 7: 540 (7632): S55. <https://doi.org/10.1038/540S55a>
  4. Tkachuk V.A. The development of regenerative medicine will not solve problems, but add them. *V mire nauki*. 2017. Available at: <https://scientificrussia.ru/articles/razvitie-regenerativnoj-medsiny> (Accessed 31 October 2018). (in Russian)
  5. Haseltine W.A. *Interview: commercial translation of cell-based therapies and regenerative medicine: learning by experience*. Interview by Emily Culme-Seymour. *Regen Med*. 2011; 6 (4): 431–5. <https://doi.org/10.2217/rme.11.40>
  6. Mason C., Dunnill P. A brief definition of regenerative medicine. *Regenerative medicine*. 2008; 3 (1): 1–5.
  7. Panchenko L.F., Maev I.V., Gurevich K.G. *Clinical biochemistry of microelements*. Moscow: GOU VUNMTS; 2004. (in Russian)
  8. Skal'nyj A.V., Rudakov I.A., Notova S.V. Skal'nyj V.V., Burceva T.I., Baranova O.V., et al. *Bioelementology: basic concepts and terms. [Bioelementologiya: osnovnye ponyatiya i terminy]*. Orenburg: GOU OGU; 2005. (in Russian)
  9. Kudrin A.V. Gromova O.A. *Trace elements in neurology*. Moscow: GEOTARMed; 2006. (in Russian)
  10. Nakoskin L.N., Novikov M.I. The content of macro and micronutrients in ontogenesis and in conditions of reparative bone regeneration in dogs. *Travmatologiya i ortopediya Rossii*. 2008; 1 (47). (in Russian)
  11. Parfenova I.A. Trace elements in programs for the correction of aesthetic problems of the face and body. *Mezoterapiya*. 2010; 3 (11). Available at: <https://www.martinox.ru/publications/meso-journal/meso11/use-of-trace-elements-in-meso.html> (Accessed 7 March 2019) (in Russian)
  12. Ponomarenko G.N. *Physical treatment methods. [Fizicheskie metody lecheniya]*. 4th ed. St. Petersburg; 2011. (in Russian)
  13. Pogorelskaya L.V. *Clinical use of Metosept and Vitanorm*. Textbook [Klinicheskoe primeneniye Metosepta i Vitanorma]. RMAPO. Moscow, 2005. (in Russian)
  14. Aksenov V.I., Sharipova M.M., Izvol'skaja M.S., et al. Influence of phytopreparations on the humoral immune response. *Vestnik vosstanovitel'noy meditsiny*. 2012; 6: 19–21. (in Russian)
  15. Dovgileva O.M., Khomullo G.V., Petrova M.B. The main features of reparative skin regeneration in the conditions of chitosan use. *Verhnevolzhskiy meditsinskiy zhurnal*. 2011; 9 (3.11): 30–7. (in Russian)
  16. Melnikova V.I., Izvol'skaja M.S., Voronova S.N., Sharipova M.M., et al. Reparative regeneration of rat skin tissue under the action of radiation from a hollow cathode lamp with a line spectrum of manganese and copper. *Tsitologiya*. 2010; 52 (3): 203–10. (in Russian)
  17. Rukin E.M., Izvol'skaja M.S., Voronova S.N., Sharipova M.M. *Per-cutaneous photophoresis of metal ions using emitters of the line spectrum of chemical elements. Buletен eksperimentalnoy biologii i meditsiny*. 2010; 149 (4): 368–71. (in Russian)
  18. Rukin E.M., Migunov S.A., Sadagov Yu.M., Tvorogova A.V. Sharipova M.M. *Correction and rapid analysis of microelements in spectral phototherapy. Mikroelementy v meditsine*. 2008; 9 (3–4): 76–8. (in Russian)
  19. Puzyreva G.A. *Experimental study of the mechanisms of biological action of spectral phototherapy: [Eksperimental'noe issledovanie mekhanizmov biologicheskogo deystviya spektral'noy fototerapii]*. Avtoreferat dissertatsii na soiskanie uchenoy stepeni kandidata biologicheskikh nauk. Moscow; 2010. (in Russian)
  20. Volotovskaya A.V., Ulashchik V.S., Mumin A.N. New methods of treating trophic ulcers and wounds, based on the effects of high-intensity laser radiation. *Meditsinskie novosti*. 2005; 12: 84–5. (in Russian)
  21. Sadovnikov V.B., Chemeris N.K., Gapeev A.B. Bessonov A.E., et al. *The effect of modulated broadband radiation generated by the Minitag therapy device and continuous extremely high-frequency electromagnetic radiation on the regeneration of full-thickness skin wounds in laboratory mice. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2003; 1: 14–5. (in Russian)
  22. Sharipova M.M., Voronova S.V., Rukin E.M., Vasilenko A.M. Comparative assessment of wound-healing effects when using devices «Bioptron», «Minitag», «Orion +» and hollow cathode lamps. *Voprosy kurortologii, fizioterapii i LFK*. 2011; 4: 42–5. (in Russian)
  23. Voronkina I.V., Kokorin K.V., Chulikov O.V., et al. Matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 of wound and burn exudates and their effect on extracellular matrix proteins. *Tsitologiya*. 2003; 45 (1): 43–50. (in Russian)
  24. Lazaro J.L., Izzo V., Meaume S., Davies A.H., Lobmann R., Uccioli L. Elevated levels of the matrix metalloproteinases and chronic wound. *J Wound Care*. 2016; 25 (5): 277–87. doi: 10.12968/jowc.2016.25.5.277
  25. Fiorio F.B., Dos Santos S.A., de Melo Rambo C.S., Dalbosco C.G., Serra A.J., de Melo B.L., et al. Photobiomodulation therapy in wound repair skin induced in aged rats old: time course of biomarkers inflammatory and repair. *Lasers Med Sci*. 2017; 32(8): 1769–82. <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2254-2>. Epub 2017 Jul 5
  26. Krishnaswamy V.R., Mintz D., Sagi I. Matrix metalloproteinases: The sculptors of chronic cutaneous wounds. *Review. Biochim Biophys Acta*. 2017; 1864 (11 Pt B): 2220–7. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.08.003>. Epub 2017 Aug 7.
  27. Rukin E.M., Tvorogova A.V., Migunov S.A., Sharipova M.M., Vasilenko A.M. Spectral phototherapy. *Medicinskaya tekhnologiya*. FS No. 2010/120 of 04/02/2010 (in Russian)
  28. Sharipova M.M. Spectral phototherapy in the restoration of microelement balance. *Mikroelementy v meditsine*. 2008; 9 (12): 42–3. (in Russian)

**Сведения об авторе:**

**Шарипова Майсият Магомедовна**, канд. мед. наук, ассистент каф. нервных болезней, e-mail: maisiyat@bk.ru

## Некролог

### Памяти Бориса Борисовича Мороза



26 марта 2021 года на 93-м году ушел из жизни главный редактор журнала «Патологическая физиология и экспериментальная терапия» выдающийся советский и российский патофизиолог, радиобиолог, академик РАН, профессор, доктор медицинских наук Мороз Борис Борисович.

Б.Б. Мороз окончил в 1948 году с отличием лечебный факультет I ММИ им. М. М. Сеченова и аспирантуру в Институте патологии и терапии интоксикаций АМН СССР. Далее с 1951 г. вся его трудовая жизнь была связана с Институтом биофизики Минздрава СССР (ныне Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна). Борис Борисович был заместителем директора института по научной части, заведующим отделом радиобиологии. В 1952 г. защитил кандидатскую диссертацию, в 1967 г. — докторскую. В 1978 г. был избран членом-корреспондентом, в 1988 г. — академиком АМН СССР.

Основные его научные труды посвящены патогенезу радиационных поражений вызванных внешним и внутренним облучением, им охарактеризованы нарушения иммунитета, поражения сердечно-сосудистой системы, системы гипофиз-кора надпочечников, процессов обмена веществ. При исследовании механизма

желудочно-кишечного синдрома им были выявлены закономерности нарушений процессов всасывания и переваривания в кишечнике, разработана схема полного парентерального питания, показаны особенности ее применения в клинических условиях. Борисом Борисовичем были раскрыты механизмы развития пострадиационного гиперкортицизма и роль глюкокортикоидов в течении лучевой болезни. Изучалась роль эмоционального стресса в связи с проблемой радиационной безопасности. Было установлено, что при комбинированном действии на организм ионизирующей радиации и эмоционального перенапряжения возможны суммирование повреждающих эффектов, снижение эффективности радиопротекторов. Применение анксиолитиков устраняло негативное влияние выраженного эмоционального стресса на течение радиационных поражений, что явилось основанием для их включения в комплекс медикаментов для оказания медицинской помощи при радиационных авариях. На облученных линейных животных, различающихся по чувствительности к эмоциональному стрессу, им была обоснована целесообразность изучения проблемы стрессоустойчивости в связи с возможностью радиационной аварии. Б.Б. Мороз принимал участие в

разработке системы нейрофизиологических и патофизиологических показателей с целью прогнозирования реакции человека на эмоциональный стресс в чрезвычайных обстоятельствах, а также совершенствования системы профессионального отбора. В области физиологии иммунитета Б.Б. Морозом было установлено, что эндогенные глюкокортикоиды регулируют процессы функционирования кроветворных стволовых клеток.

Б.Б. Мороз был требовательным и чутким воспитателем научных кадров, пользовался заслуженным авторитетом. К числу учеников Бориса Борисовича причисляли себя не только аспиранты и научные работники, прошедшие профессиональную подготовку под непосредственным его руководством, но и те, кому он открыл дорогу в науку, помог сделать верный выбор научного пути, поддержал и воодушевил не только добрым советом, но и своим обаянием глубоко интеллигентного и доброжелательного человека.

Неоценим вклад Б.Б. Мороза, как главного редактора, в поддержании и совершенствовании работы журнала «Патологическая физиология и экспериментальная терапия». Особо следует отметить бережное и необычайно внимательное отношение Бориса Борисовича к научным работам, поступающим из разных регионов нашей страны и стран ближнего зарубежья. Имея большой опыт редакционной работы, он постоянно уделял огромное внимание глубокому анализу и обсуждению материала, что в большинстве случаев позволяло кардинально улучшить качество

работ, обнаружить в них новые оригинальные стороны, помочь автору исследования правильно оценить собственный материал, а подчас определить и новые перспективные направления исследовательской работы. Борис Борисович проводил чрезвычайно трудную и большую работу по подбору и публикации на страницах журнала серии лекций по фундаментальным проблемам патофизиологии, что легло в основу книги «Актуальные проблемы патофизиологии» (2001). Этот уникальный материал оказался своевременным и был востребован широкой аудиторией преподавателей, студентов, аспирантов, научных работников, врачей разных специальностей и лишней раз продемонстрировал важность и незаменимость патофизиологии для современного образовательного процесса в высшей медицинской школе, научно-исследовательской и клинической медицины.

На протяжении многих лет Б.Б. Мороз вел большую работу на посту заместителя Всесоюзного, а затем Российского научного общества патофизиологов, заместителя ответственного редактора отдела «Патологическая физиология» Большой медицинской энциклопедии, председателя секции «Общая патология и патофизиология» РАМН.

Заслуги Бориса Борисовича Мороза перед отечественной наукой были высоко оценены и отмечены правительственными наградами — орденом Трудового Красного Знамени, орденом «Знак Почета» РФ и медалями.

*Светлая память о творческом, интеллигентном, глубоко преданном науке, доброжелательном человеке — Борисе Борисовиче Морозе надолго сохранится в памяти всех, кому посчастливилось с ним работать, кто учился у него, его друзей и коллег.*

*Редколлегия журнала, коллеги, ученики, друзья.*