

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-me dia@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 09.09.2021
Подписано к печати 20.09.2021
Опубликовано 30.09.2021

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. № 3. 1–106

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
Российское общество патофизиологов
НИИ Общей патологии и патофизиологии

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Ежеквартальный рецензируемый научно-практический журнал
Основан в 1957 г.

Том 65 № 3 · 2021

Июль–Сентябрь

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 «Ural Press»: 71456

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

Sent into set on 09.09.2021
Signed for publication on 20.09.2021
Published on 30.09.2021

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

ISSN 0031-2991

Pat Fiziol Eksp Ter
2021. Volume 65. No 3. 1-106

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 № 3 · 2021
July–September

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

- Филиппова Е.А., Бурденный А.М., Лукина С.С., Иванова Н.А., Пронина И.В., Казубская Т.П., Брага Э.А., Логинов В.И.** Изменение уровня метилирования группы генов микроРНК как фактора развития и прогрессии рака молочной железы 4
- Алилуев А.В., Семенова Л.Ю., Порядин Г.В., Манухина Е.Б., Дауни Г.Ф., Горячева А.В., Мальцева Н.В., Шемяков С.Е., Карпенко М.Н., Пестерева Н.С., Кондашевская М.В., Цейликман В.Э.** Влияние адаптации к периодической гипоксии на обмен серотонина и показатели окислительного стресса в гиппокампе крыс при экспериментальном посттравматическом стрессовом расстройстве 12
- Куликов В.П., Каланова Л.А., Трегуб П.П.** Потенцирование гиперкапнической гипоксии при комбинации с фармакологическими нейропротекторами 21
- Покровский В.М., Елисеева Л.Н., Самородская Н.А.** Иерархическая организация системы регуляции артериального давления в организме человека 26
- Наточин Ю.В., Кузнецова А.А., Нистарова А.В.** Na^+/K^+ отношение в сыворотке крови при орфанных заболеваниях 34
- Панов А.А., Ржавина Е.М., Морозова М.П., Ердяков А.К., Гаврилова С.А.** Влияние длительной гипергликемии на морфологию роговицы и сетчатки у крыс при стрептозотцин-индуцированном сахарном диабете 42
- Маклакова И.Ю., Цвиренко С.В., Базарный В.В., Гребнев Д.Ю.** Влияние сочетанной трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток и звездчатых клеток печени на морфофункциональное состояние печени после введения CCl_4 48
- Охремчук Л.В., Семинский И.Ж.** Протекторный эффект адеметинина, цитофлавина и дигидрокверцетина у крыс, подвергнутых токсическому влиянию вальпроата натрия 56
- Александрова Н.П., Погонченкова И.В.** Действие преформированных физических факторов на реологические свойства крови у больных с хронической постэмболической легочной гипертензией 64
- Терехина Н.А., Селин А.Д., Терехин Г.А.** Влияние электромагнитного излучения на показатели антиоксидантной защиты в эритроцитах и плазме крови крыс 73

ОБЗОРЫ

- Меркулов Ю.А., Гореликов А.Е., Пятков А.А., Меркулова Д.М.** Ритмическая транскраниальная магнитная стимуляция в терапии хронической боли в нижней части спины. Систематический обзор (часть I) 80
- Начаров П.В., Коноплев О.И., Преображенская Ю.С., Дроздова М.В., Захарова Г.П.** Этиологические аспекты проблемы хронического тонзиллита 91

МЕТОДИКА

- Жариков А.Ю., Кальницкий А.С., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Бобров И.П., Жарикова Г.В.** Экспериментальная модель острого уратно-оксалатного нефролитиаза на крысах Wistar 98

CONTENTS

ORIGINAL ARTICLES

- Filippova E.A., Burdenny A.M., Lukina S.S., Ivanova N.A., Pronina I.V., Kazubskaya T.P., Braga E.A., Loginov V.I.** Changes in the methylation level of microRNA genes as a factor of breast cancer development and progression 4
- Aliluev A.V., Semenova L.Yu., Poryadin G.V., Manukhina E.B., Downey H.F., Goryacheva A.V., Maltseva N.V., Shemyakov S.E., Karpenko M.N., Pestereva N.S., Kondashevskaya M.V., Tseilikman V.E.** Effect of adaptation to intermittent hypoxia on serotonin metabolism and oxidative stress in the hippocampus of rats with experimental post-traumatic stress disorder 12
- Kulikov V.P., Kalanova L.A., Tregub P.P.** Potentiation of the protective effect of hypercapnic hypoxia in combination with pharmacological neuroprotective agents 21
- Pokrovsky V.M., Eliseeva L.N., Samorodskaya N.A.** Hierarchical organization of the blood pressure regulation system in the human body 26
- Natochin Yu.V., Kuznetsova A.A., Nistarova A.V.** The blood serum Na^+/K^+ ratio in orphan diseases 34
- Panov A.A., Rzhavina E.M., Morozova M.P., Erdiakov A.K., Gavrilova S.A.** Effect of long-term hyperglycemia on cornea and retina morphology in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus 42
- Maklakova I.Yu., Tsvirenko S.V., Bazarny V.V., Grebnev D.Yu.** Effect of combined transplantation of multipotent mesenchymal stromal cells and stellate liver cells on the morpho-functional state of the liver after administration of CCL_4 48
- Okhremchuk L.V., Seminskiy I.Zh.** Protective effect of ademetionine, cytoflavinum and dihydroquercetin in the liver of rats exposed to toxic effects of valproate sodium 56
- Aleksandrova N.P., Pogonchenkova I.V.** Effects of preformed physical factors on blood rheology in patients with chronic post-embolic pulmonary hypertension 64
- Terekhina N.A., Selin A.D., Terekhin G.A.** The effect of electromagnetic radiation on indexes of antioxidant defense in rat erythrocytes and blood plasma 73

REVEIWS

- Merkulov Y.A., Gorelikov A.E., Pyatkov A.A., Merkulova D.M.** Repetitive transcranial magnetic stimulation in the treatment of chronic low back pain. A systematic review (Part I) 80
- Nacharov P.V., Konoplev O.I., Preobrazhenskaya Yu.S., Drozdova M.V., Zakharova G.P.** Etiological issues of chronic tonsillitis 91

METHODS

- Zharikov A.Yu., Kalnitsky A.S., Mazko O.N., Makarova O.G., Bobrov I.P., Zharikova G.V.** Experimental model of acute urate oxalate nephrolithiasis in Wistar rats 98

Оригинальные статьи

© Коллектив авторов, 2021

УДК 595.599.9

Филиппова Е.А.¹, Бурденный А.М.¹, Лукина С.С.¹, Иванова Н.А.¹, Пронина И.В.¹, Казубская Т.П.², Брага Э.А.¹, Логинов В.И.¹

Изменение уровня метилирования группы генов микроРНК как фактора развития и прогрессии рака молочной железы

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»,

125315, Москва, Россия, Балтийская ул., д. 8;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,

115478, Москва, Россия, Каширское шоссе, д. 24

Введение. Метилирование как процесс эпигенетической регуляции экспрессии генов является важнейшим в поддержании геномной стабильности. В норме этот процесс определяет подавление активности онкогенов и поддержание работы супрессоров опухолевого роста. Другим важнейшим эпигенетическим регулятором являются микроРНК. Нарушения метилирования CpG-островков в промоторных районах генов, кодирующих микроРНК, являются важнейшим фактором онкогенеза. **Цель** – расширение спектра генов микроРНК гиперметилируемых при раке молочной железы и изучение их связи с метастазированием и иммуногистохимическим статусом опухоли.

Методика. В настоящей работе был проведен отбор ряда генов микроРНК, изменяющих уровень метилирования при раке молочной железы. Методом количественной метилспецифичной ПЦР на представительной выборке из 70 парных образцов рака молочной железы изучен уровень метилирования 8 генов микроРНК, ассоциированных с раком молочной железы: *MIR107*, *MIR124-2*, *MIR1258*, *MIR130B*, *MIR137*, *MIR191*, *MIR203A*, *MIR339*.

Результаты. Показано статистически значимое увеличение уровня метилирования в опухолевой ткани РМЖ по сравнению с гистологически нормальной тканью молочной железы для генов *MIR107*, *MIR124-2*, *MIR1258*, *MIR130B*, *MIR137*, *MIR339* и снижение уровня метилирования для гена *MIR191*. Кроме того, показано статистически значимое увеличение уровня метилирования на III-IV (поздних) стадиях РМЖ для генов *MIR107*, *MIR1258*, *MIR130B*, *MIR137*, *MIR339*, в опухолях с большим размером – *MIR107*, *MIR1258*, *MIR130B*, *MIR137*, *MIR339*, с низким уровнем дифференцировки – *MIR124-2*, с наличием метастазов в лимфатические узлы – *MIR107*, *MIR1258*, *MIR137*, *MIR339*. Опухоли, не экспрессирующие рецептор прогестерона (PR), имеют статистически значимо более высокий уровень метилирования генов *MIR137*, *MIR339*.

Заключение. Таким образом, определены новые молекулярные показатели прогрессии РМЖ и биомаркеры, которые могут быть использованы при дифференциальной диагностике молекулярного подтипа РМЖ.

Ключевые слова: рак молочной железы; гены микроРНК; уровень метилирования

Для цитирования: Филиппова Е.А., Бурденный А.М., Лукина С.С., Иванова Н.А., Пронина И.В., Казубская Т.П., Брага Э.А., Логинов В.И. Изменение уровня метилирования группы генов микроРНК как фактора развития и прогрессии рака молочной железы. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2021; 65(3): 4-11.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.4-11

Участие авторов: концепция дизайна исследования – Бурденный А.М., Брага Э.А.; сбор материала – Казубская Т.П.; анализ и интерпретация данных – Лукина С.С., Иванова Н.А., Пронина И.В.; статистическая обработка данных – Филиппова Е.А.; подготовка иллюстративного материала – Логинов В.И.; написание текста – Филиппова Е.А., Бурденный А.М.; редактирование текста – Брага Э.А., Логинов В.И.; обсуждение окончательной версии статьи – Бурденный А.М., Логинов В.И.

Для корреспонденции: Бурденный Алексей Михайлович, e-mail: burdennyu@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена за счет средств Российского научного фонда (грант № 20-15-00126).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 17.04.2021

Принята к печати 30.06.2021

Опубликована 30.09.2021

Filippova E.A.¹, Burdenny A.M.¹, Lukina S.S.¹, Ivanova N.A.¹, Pronina I.V.¹, Kazubskaya T.P.², Braga E.A.¹, Loginov V.I.¹

Changes in the methylation level of microRNA genes as a factor of breast cancer development and progression

¹Scientific Research Institute of General Pathology and Pathophysiology,
8 Baltiyskaya Str., Moscow, 125315, Russian Federation;

²N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology,
24 Kashirskoe shosse, Moscow 115478, Russian Federation

Background. Methylation, as an epigenetic mechanism for regulation of gene expression, is crucial for the genome stability. Normally, this process is characterized by the ability to silence the oncogene activity and to support the action of suppressor genes. MicroRNAs (miRNAs) are another key epigenetic regulator of gene expression. Aberrant methylation of CpG islands in promoter regions of the genes that code miRNAs is the most important oncogenic factor. **Aim.** To expand the spectrum of miRNA genes hypermethylated in breast cancer and to study their relationship with metastasis and immunohistochemical status of the tumor. **Methods.** MiRNA tumor suppressor genes were selected that changed their methylation level in breast cancer patients. Using the method of quantitative methylation-specific PCR, the methylation level of eight miRNA genes associated with breast cancer was studied on a representative set of 70 paired breast cancer samples: *MIR107*, *MIR124-2*, *MIR1258*, *MIR130B*, *MIR137*, *MIR191*, *MIR203A*, and *MIR339*.

Results. The methylation level of the genes *MIR-107*, *MIR124-2*, *MIR1258*, *MIR130B*, *MIR137*, *MIR339* was significantly higher in breast cancer tissue compared to normal breast tissue whereas for the gene *MIR191*, it was significantly lower. Also, the methylation levels of genes *MIR107*, *MIR1258*, *MIR130B*, *MIR137*, and *MIR339* were significantly increased at stages III-IV (advanced) breast cancer; in large tumors, the methylation levels were increased for *MIR107*, *MIR1258*, *MIR130B*, *MIR137*, and *MIR339*; in poorly differentiated tumors, the methylation level was increased for *MIR124-2*; and in the presence of lymph node metastases, for *MIR107*, *MIR1258*, *MIR-137*, and *MIR-339*. Tumors not expressing the progesterone receptor (PR) had a higher methylation level of *MIR137* and *MIR339*.

Conclusion. The study determined new molecular indicators for breast cancer progression and identified biomarkers that may be used in the differential diagnosis of breast cancer molecular subtype.

Keywords: breast cancer; microRNA genes; methylation level

For citation: Filippova E.A., Burdenny A.M., Lukina S.S., Ivanova N.A., Pronina I.V., Kazubskaya T.P., Braga E.A., Loginov V.I. Changes in the methylation level of microRNA genes as a factor of breast cancer development and progression. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65 (3): 4-11. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.4-11

Contribution: concept design of the study – Burdenny A.M., Braga E.A.; collection of material – Kazubskaya T.P.; analysis and interpretation of data – Lukina S.S., Ivanova N.A., Pronina I.V.; statistical data processing – Filippova E.A.; preparation of illustrative material – Loginov V.I.; writing of the text – Filippova E.A., Burdenny – A.M.; editing of the text – Braga E.A., Loginov V.I.; discussion of the article final version – Burdenny A.M., Loginov V.I.

For correspondence: *Burdenny Alexey Mikhailovich*, leading researcher of the lab. Pathogenomics and transcriptomics, Scientific Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, e-mail: burdenny@gmail.com

Financing. The work was carried out at the expense of the Russian Science Foundation (grant No. 20-15-00126).

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

Information about the authors:

Filippova E.A., <https://orcid.org/0000-0001-7172-0433>

Burdenny A.M., <https://orcid.org/0000-0002-9398-8075>

Braga E.A., <https://orcid.org/000-0001-5188-4094>

Loginov V.I., <https://orcid.org/0000-0003-2668-8096>

Received: 17.04.2021

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

Введение

На сегодняшний день рак молочной железы (PMЖ) остается наиболее распространенным видом рака у женщин как в развитых, так и в развивающихся странах [1]. Каждый год в мире регистрируется более 1,5 млн случаев PMЖ. В России этот показатель

находится на уровне выявления более 50000 новых случаев этого заболевания [1, 2]. Среди пациенток с онкологическими заболеваниями PMЖ считается основной причиной неблагоприятного исхода [3]. При этом специфических маркеров для прогноза и лечения за-

болевания по результатам транскриптомного и протеомного анализов пока не выявлено [4].

Важным эпигенетическим механизмом регуляции экспрессии генов является метилирование CpG-островков их промоторных районов. При РМЖ наблюдается изменение характера метилирования как белок-кодирующих генов, так и генов некодирующих белки, в том числе и генов микроРНК [5]. Показано, что гены микроРНК в несколько раз чаще подвергаются метилированию, чем белок-кодирующие гены [6, 7]. Также было показано, что многие микроРНК вовлечены в патогенез эпителиальных опухолей разной локализации, в том числе, и в процессы инвазии, эпителиально-мезенхимального перехода и метастазирования, протекающие при РМЖ [8]. Согласно гипотезе Hanahan & Weinberg, прогрессия заболевания и метастатическая активность опухолевых клеток определяется генами, в которых изменения накапливаются на последней стадии заболевания и коррелируют со степенью злокачественности опухоли [9]. В ряде работ показан высокий уровень метилирования для пациенток с прогрессией РМЖ [10-12]. Следует отметить, что ранее для генов микроРНК (*MIR124-2*, *MIR137*, *MIR191*, *MIR203A*; *MIR107*, *MIR1258*, *MIR130B*), нами была показана роль изменения уровня метилирования их промоторных CpG-островков в прогрессии рака различных локализаций [17, 19]. Поскольку процессы, приводящие к возникновению опухолей, имеют некоторые схожие черты патологического развития, мы решили изучить возможное участие изменения уровня метилирования исследованных ранее генов микроРНК в патогенезе РМЖ.

Цель работы – изучение изменения уровня метилирования спектра генов микроРНК, гиперметилируемых при раке молочной железы, и их связи с метастазированием и иммуногистохимическим статусом опухоли.

Методика

Образцы РМЖ собраны и морфологически охарактеризованы в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Исследованы образцы РМЖ и парные гистологически неизменённые ткани молочной железы, полученные от 70 пациенток, которые до операции не получали лучевую, химио- или гормонотерапию. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2004) и письменного добровольного информированного согласия всех пациентов. Работа одобрена этическим комитетом ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

Все опухоли молочной железы классифицированы в соответствии с TNM-классификацией Международного противоракового союза и гистологически верифицированы на основании критериев классификации ВОЗ [13]. В **таблице** приведены обобщенные данные по клинико-гистологическим характеристикам исследованных 70 парных образцов РМЖ. Для отбора образцов с высоким содержанием опухолевых клеток (не менее 70-80%) проводили дополнительный гистологический анализ микросрезов (3-5 мкм), окрашенных гематоксилином и эозином. В качестве второго (абсолютного) контроля использовали 17 образцов тканей молочной железы лиц, умерших от заболеваний не связанных с онкологией и не имевших онкологических заболеваний в анамнезе. Работа выполнена по международным правилам работы с биоматериалом людей. Получено разрешение локального этического комитета.

Образцы тканей хранили при -70 °С. Полученные в ходе биопсии или оперативного вмешательства образцы объемом до 100 мм³ измельчали с использованием гомогенизатора-диспергатора Ultra-Turrax T10 basic, (IKA, Германия). Высокомолекулярную ДНК выделяли из ткани по стандартной методике с применением фенол-хлороформной экстракции. Качество и концентрацию ДНК определяли по оптической плотности на спектрофотометре NanoDrop ND-1000 («Thermo Fisher Scientific», США).

Уровень метилирования генов микроРНК анализировали методом количественной метил-специфичной ПЦР (МС-ПЦР) с детекцией в реальном времени с применением бисульфитной конверсии ДНК (0.5–2.0 мкг) по методу опубликованному в работах [14-16]. Набор реактивов qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия) использовали в соответствии с рекомендациями производителя. Амплификацию проводили в системе Bio-Rad CFX96 Real-Time PCR Detection System («Bio-Rad», США) по протоколу производителя. Последовательности олигонуклеотидов и условия проведения ПЦР для исследованных генов микроРНК взяты из работ [14, 17, 18] Полноту конверсии ДНК определяли с помощью контрольного локуса гена *ACTB* с использованием олигонуклеотидов специфичных к неконвертированной матрице [14]. В качестве контролей для неметилированных аллелей использовали коммерческий препарат ДНК #G1471 («Promega», США). В качестве положительного контроля 100%-ого метилирования использовали коммерческий препарат ДНК #SD1131 («Thermo Fisher Scientific»).

Статистическую оценку полученных данных по изменению уровня метилирования генов микроРНК проводили с применением показателя индекса метили-

рования (ИМ), рассчитанного для каждого образца. Для оценки значимости различий между исследуемыми группами применяли непараметрические критерии Манна-Уитни и Краскала-Уоллиса для независимых выборок. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Расчеты проводили в системе для статистического анализа данных IBM SPSS Statistics 22.

Результаты исследования

На представительной выборке из 70 парных образцов РМЖ (опухоль/гистологически неизменная норма) и 17 контрольных образцах проведено сравнение уровня метилирования 8 исследованных генов микроРНК (*MIR107*, *MIR124-2*, *MIR1258*, *MIR130B*, *MIR137*, *MIR203A*, *MIR339*, *MIR191*). Статистически значимого изменения уровня метилирования исследованных

генов в образцах гистологически неизменной прилежащей ткани молочной железы относительно уровня метилирования их же в контрольных образцах выявлено не было.

С использованием критерия Краскала-Уоллиса для 3 независимых выборок статистически значимое увеличение уровня метилирования в образцах опухоли по сравнению с парными образцами гистологически неизменной прилежащей ткани молочной железы и контрольной группы было выявлено для 4 генов микроРНК (*MIR1258*, *MIR130B*, *MIR137*, *MIR339* – $p < 0,002$) и значимое снижение уровня метилирования в опухоли по сравнению с нормальной тканью и контрольной группой для *MIR-191* ($p < 0,0001$) (рис. 1). Кроме этого, с использованием критерия Манна-Уитни, выявлено значимое увеличение уровня метилирования гена

Таблица/Table

Клинико-патологические параметры больных РМЖ Clinical and pathological breast cancer patients features

Клинико-патологический параметр		N=70 (%)
Гистологический тип	Инфильтративно-протоковый рак	49 (70)
	Инфильтративно-дольковый рак	21 (30)
Стадия опухолевого процесс	I	9 (12.9)
	II	37 (52.9)
	III	23 (32.9)
	IV	1 (1.4)
Степень дифференцировки	G1	6 (8.6)
	G2	51 (72.9)
	G3	13 (18.6)
Размер первичной опухоли	T1	13 (18.6)
	T2	43 (61.4)
	T3	8 (11.4)
	T4	6 (8.6)
Лимфогенное метастазирование	N0	28 (40)
	N1-3	42 (60)
Иммуно-гистохимический тип опухоли	Люминальный тип А	9 (12.9)
	Люминальный тип В (HER2/neu ⁻ , Ki-67>16%)	12 (17.1)
	Люминальный тип В(HER2/neu ⁺)	34 (48.6)
	Erb-B2	7 (10)
Статус рецепторов эстрогенов	Тройной-негативный рак	8 (11.4)
	Положительный	53 (75.7)
Статус рецепторов прогестерона	Отрицательный	17 (24.3)
	Положительный	40 (57.1)
Статус HER2	Отрицательный	30 (42.9)
	Положительный	41 (58.6)
Статус Ki67	Отрицательный	29 (41.4)
	низкий, <16%	19 (27.1)
	промежуточный, 16-30%	23 (32.9)
	высокий, >30%	28 (40)

MIR124-2 относительно уровня метилирования в контрольной группе ($p < 0,05$) и гена *MIR107* относительно парных образцов гистологически неизменённой прилежащей ткани молочной железы ($p = 0,002$). Для *MIR203A* изменения уровня метилирования при РМЖ не выявлено. Полученные результаты подтверждают более ранние исследования, выполненные на меньших выборках образцов РМЖ, о роли метилирования этих генов микроРНК в патогенезе РМЖ [11].

Далее мы провели сравнение полученных данных об изменении уровня метилирования исследованных генов микроРНК с клинико-морфологическими характеристиками опухолей (стадией, степенью дифференцировки, размером опухоли, наличием

или отсутствием метастазов в лимфатических узлах). С использованием критерия Манна-Уитни для независимых выборок, было выявлено статистически значимое ($p < 0.02$) увеличение уровня метилирования на III-IV стадии по сравнению с I-II стадией для пяти исследованных генов микроРНК: *MIR107*, *MIR1258*, *MIR130B*, *MIR137*, *MIR339* (рис. 2, А). Следует подчеркнуть, что в зарубежной литературе информация о связи исследованных генов со стадией онкологического процесса при раке молочной железы, не выявлена. Выявлено значимое увеличение уровня метилирования для *MIR124-2* в образцах с низкой степенью дифференцировки опухоли и неблагоприятным прогнозом (G3 – низкодифференци-

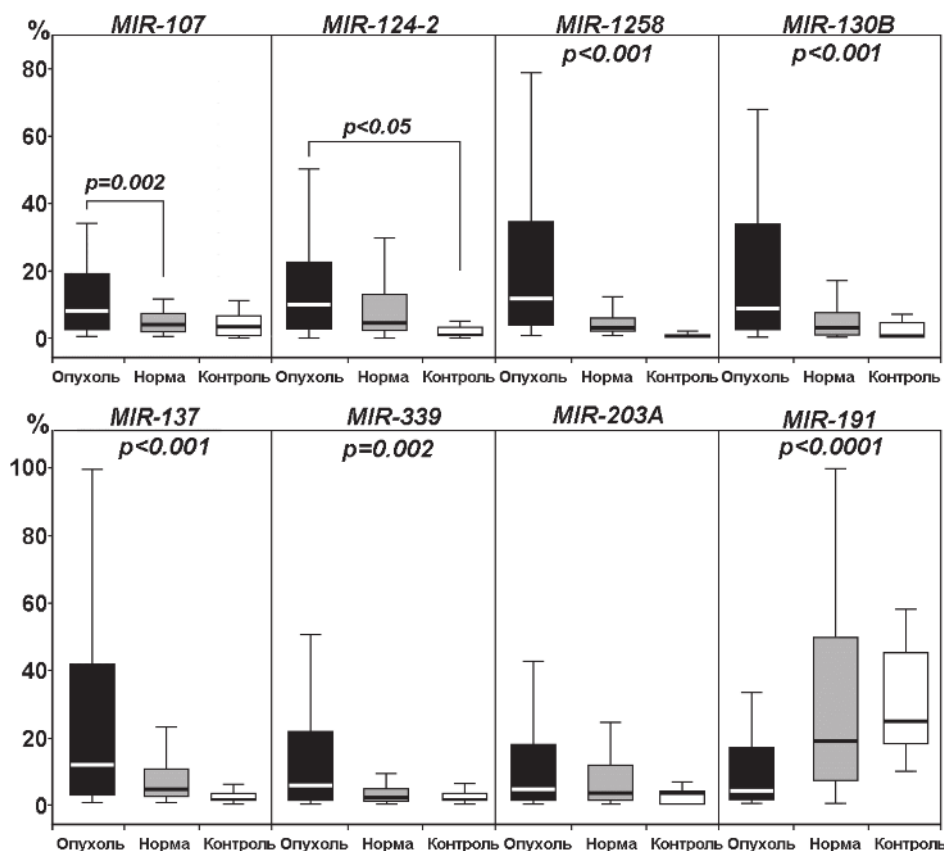


Рис. 1. Сравнение уровня метилирования 8 генов миРНК в образцах опухоли РМЖ, парной гистологически неизменённой ткани и нормальной ткани умерших без онкопатологии в анамнезе («контроль»). Верхняя и нижняя границы прямоугольников на диаграммах соответствуют третьему и первому квартилям (внутри прямоугольника попадает 50% наблюдений). Линия внутри прямоугольника представляет медиану. Линиями сверху и снизу от прямоугольников отмечены максимальное и минимальное значения. Ось Y – уровень метилирования в процентах; ось X – анализируемые группы.

Fig. 1. Comparison of the 8 miRNA genes methylation level in breast cancer samples with paired histologically unchanged tissue and normal tissue of deceased patients without a history of cancer pathology («control»). The upper and lower borders of the rectangles in the diagrams correspond to the third and first quartiles (50% of the observations fall inside the rectangle). The line inside the rectangle represents the median. The lines at the top and bottom of the rectangles indicate the maximum and minimum values. Y-axis – the level of methylation (percentage); X-axis – the analyzed groups.

рованная опухоль) ($p=0.015$, рис. 2, Б). Кроме того, для генов *MIR107*, *MIR1258*, *MIR339* выявлено значимое ($p<0,05$) увеличение уровня метилирования как в образцах с большим (T3 - опухоль более 5 см в наибольшем измерении) размером опухоли, так и в образцах с наличием метастазов в лимфатических узлах (N_{1-3}) (рис. 2, В, Г). Следует отметить, что выявление связи гиперметилирования гена *MIR1258* с метастазированием соответствует результатам, полученным при раке легкого [19].

Важно отметить, что для гена *MIR130B* обнаружено статистически значимое увеличение уровня ме-

тилирования только в образцах с большим размером опухоли ($p=0.004$), а для *MIR137* – только в образцах с наличием метастазов в лимфатических узлах ($p=0,016$). Нам известно единственное сообщение, в котором повышение частоты метилирования гена *MIR-137* при РМЖ показано с помощью гибридизации ДНК на чипах [20].

Таким образом, полученные нами результаты расширяют представления о роли исследованных микроРНК в патогенезе РМЖ. Важно отметить, что 3 микроРНК *MIR107*, *MIR1258*, *MIR339* коррелируют со всеми исследованными патофизиологическими параметрами

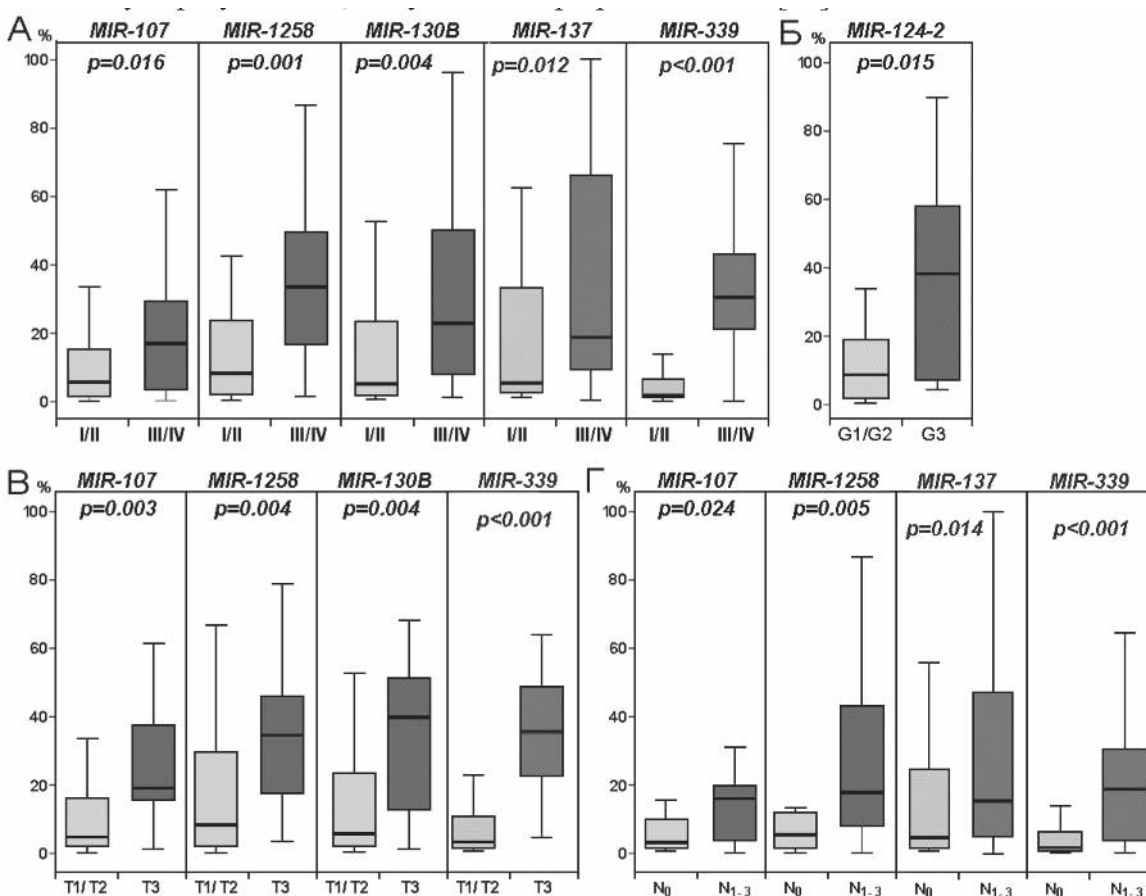


Рис. 2. Связь уровня метилирования генов миРНК со стадией онкологического процесса (А), степенью дифференцировки (Б), размером опухоли (В), наличием метастазов в лимфатические узлы или другие органы (Г) при РМЖ. Верхняя и нижняя границы прямоугольников на диаграммах соответствуют третьему и первому квартилям (внутри прямоугольника попадает 50% наблюдений). Линия внутри прямоугольника представляет медиану. Линиями сверху и снизу от прямоугольников отмечены максимальное и минимальное значения. Ось Y – уровень метилирования в процентах; ось X – анализируемые группы.

Fig. 2. The relationship of the miRNA genes methylation level with the stage of the oncological process (A), the degree of differentiation (B), the size of the tumor (C), the presence of metastases to the lymph nodes or other organs (D) in breast cancer. The upper and lower borders of the rectangles in the diagrams correspond to the third and first quartiles (50% of the observations fall inside the rectangle). The line inside the rectangle represents the median. The lines at the top and bottom of the rectangles indicate the maximum and minimum values. Y-axis – the level of methylation (percentage); X-axis – the analyzed groups.

прогрессии РМЖ. Это может указывать на диагностический и прогностический потенциал этих генов.

Итоговой частью нашей работы стало сопоставление полученных нами результатов по уровню метилированию исследованных генов микроРНК с иммуно-гистохимическим типом опухоли, статусом рецепторов эстрогена (ER), прогестерона (PR), эпидермального фактора роста 2 типа (Her2/neu), и уровнем экспрессии антигена Ki-67. Для *MIR107*, *MIR124-2*, *MIR1258*, *MIR130B*, *MIR203A*, *MIR191* статистически значимых изменений уровня метилирования при РМЖ выявлено не было. Показано статистически значимое увеличение уровня метилирования генов *MIR137* и *MIR339* в опухолях молочной железы, не экспрессирующих прогестероновый рецептор (PR) (рис 3).

Таким образом, полученные данные о высоком уровне метилирования генов *MIR137* и *MIR339* в образцах с отсутствием экспрессии рецептора прогесте-

рона может рассматриваться как селективный биомаркер прогрессии РМЖ при анализе иммуногистохимического статуса опухоли.

Заключение

Таким образом, было изучено влияние aberrантного метилирования 8 генов микроРНК на патогенез РМЖ. Было установлено изменение уровня метилирования для семи из восьми генов. Было показано повышение уровня метилирования для 6 генов микроРНК в опухоли (*MIR107*, *MIR124-2*, *MIR1258*, *MIR130B*, *MIR137*, *MIR339*), что предположительно указывает на их супрессорную природу. Также показано выраженное гипометилирование гена *MIR191*, что может указывать на онкогенную природу данной микроРНК при РМЖ.

Показана статистически значимая корреляция повышенного уровня метилирования *MIR339* со стадией онкологического процесса, размером опухоли, наличием лимфогенных метастазов и уровнем экспрессии рецептора прогестерона. Это свидетельствует о том, что данная микроРНК может рассматриваться как один из биомаркеров опухоли молочной железы.

Авторы выражают благодарность РОНЦ им. Н.Н. Блохина за сбор и клинико-гистологическую характеристику образцов РМЖ.

Литература

(п.п. 1; 3-5; 7-17; 20 см. References)

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздравоохранения России.
- Логинов В.И., Рыков С.В., Фридман М.В., Брага Э.А. Метилирование генов микроРНК и онкогенез. *Биохимия*. 2015; 80(2): 184-203.
- Логинов В.И., Бурденный А.М., Пронина И.В., Хоконова В.В., Куревлев С.В., Казубская Т.П. и др. Новые гены микроРНК, гиперметилированные при раке молочной железы. *Молекулярная биология*. 2016; 50(5): 797-802. <https://doi.org/10.7868/S0026898416050104>
- Рыков С.В., Ходырев Д.С., Пронина И.В., Казубская Т.П., Логинов В.И., Брага Э.А. Новые гены микроРНК, подверженные метилированию в опухолях легкого. *Генетика*. 2013; 49(7): 896-901. <https://doi.org/10.7868/S0016675813070114>

References

- Rivera-Franco M.M., Leon-Rodriguez E. Delays in Breast Cancer Detection and Treatment in Developing Countries. *Breast Cancer (Auckl)*. 2018; 12: e1178223417752677. <https://doi.org/10.1177/1178223417752677>
- Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shahzadova A.O. Conditions of oncological care for the Russian population in 2019. [Sostoyanie onkologicheskoy pomoshchi naseleniyu Rossii v 2019 godu]. Moscow: FSBI P.A. Herzen MNROI of Ministry of Health and Social Development of Russia. (in Russian)

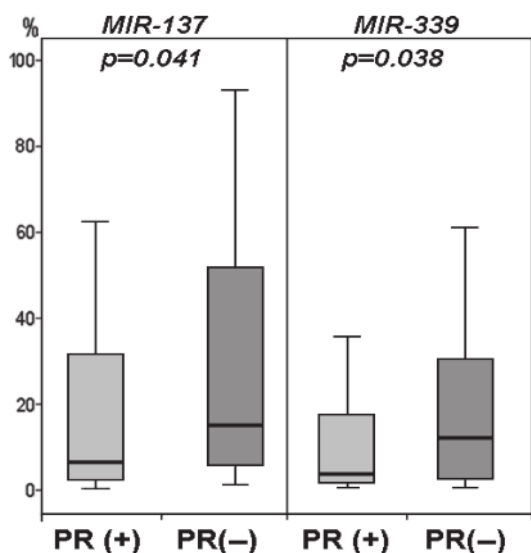


Рис. 3. Связь уровня метилирования генов микроРНК с наличием (PR(+)) или отсутствием (PR(-)) экспрессии рецепторов к прогестерону. Верхняя и нижняя границы прямоугольников на диаграммах соответствуют третьему и первому квартилям (внутри прямоугольника попадает 50% наблюдений). Линия внутри прямоугольника представляет медиану. Линиями сверху и снизу от прямоугольников отмечены максимальное и минимальное значения. Ось Y – уровень метилирования в процентах; ось X – анализируемые группы.

Fig. 3. The relationship of the miRNA genes methylation level with the presence (PR (+)) or absence (PR (-)) of progesterone receptor expression. The upper and lower borders of the rectangles in the diagrams correspond to the third and first quartiles (50% of the observations fall inside the rectangle). The line inside the rectangle represents the median. The lines at the top and bottom of the rectangles indicate the maximum and minimum values. Y-axis – the level of methylation (percentage); X-axis – the analyzed groups.

3. Rocco N., Rispoli C., Moja L., Amato B., Iannone L., Testa S., et al. Different types of implants for reconstructive breast surgery. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016; 2016(5): CD010895. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010895.pub2>
4. Zhang M., Wang Y., Wang Y., Jiang L., Li X., Gao H., et al. Integrative Analysis of DNA Methylation and Gene Expression to Determine Specific Diagnostic Biomarkers and Prognostic Biomarkers of Breast Cancer. *Front Cell Dev Biol.* 2020; 8: e529386. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.529386>
5. Moarii M., Boeva V., Vert J.P., Reyat F. Changes in correlation between promoter methylation and gene expression in cancer. *BMC Genomics.* 2015; 16: e873. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1994-2>
6. Loginov V.I., Rykov S.V., Fridman M.V., Braga E.A. MicroRNA gene methylation and oncogenesis. *Biochemistry (Mosc).* 2015; 80(2): 145-62. <https://doi.org/10.1134/S0006297915020029>
7. Lo P.K., Wolfson B., Zhou X., Duru N., Gernapudi R., Zhou Q. Noncoding RNAs in breast cancer. *Brief Funct Genomics.* 2016; 15(3): 200-21. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elv055>
8. Arif K.M.T., Elliott E.K., Haupt L.M., Griffiths L.R. Regulatory Mechanisms of Epigenetic miRNA Relationships in Human Cancer and Potential as Therapeutic Targets. *Cancers (Basel).* 2020; 12(10): e2922. <https://doi.org/10.3390/cancers12102922>
9. Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011; 144(5): 646-74. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
10. Kang H., Kim C., Lee H., Rho J.G., Seo J.W., Nam J.W., et al. Downregulation of microRNA-362-3p and microRNA-329 promotes tumor progression in human breast cancer. *Cell Death Differ.* 2016; 23(3): 484-95. <https://doi.org/10.1038/cdd.2015.116>
11. Pronina I.V., Loginov V.I., Burdenny A.M., Fridman M.V., Senchenko V.N., Kazubskaya T.P. et al. DNA methylation contributes to deregulation of 12 cancer-associated microRNAs and breast cancer progression. *Gene.* 2017; 604: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2016.12.018>
12. Humphries B., Wang Z., Yang C. MicroRNA Regulation of Epigenetic Modifiers in Breast Cancer. *Cancers (Basel).* 2019; 11(7): 897. <https://doi.org/10.3390/cancers11070897>
13. Brierley J.D., Gospodarowicz M.K., Wittekind Ch., eds. *Union for International Cancer Control (UICC). TNM Classification of Malignant Tumours*, 8th edn. Chichester, West Sussex, UK; Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2017.
14. Hattermann K., Mehdorn H.M., Mentlein R., Schultka S., Held-Feindt J. A methylation-specific and SYBR-green-based quantitative polymerase chain reaction technique for O6-methylguanine DNA methyltransferase promoter methylation analysis. *Analytical Biochemistry.* 2008; 377(1): 62-71. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2008.03.014>
15. Loginov V.I., Dmitriev A.A., Senchenko V.N., Pronina I.V., Khodyrev D.S., Kudryavtseva A.V., et al. Tumor suppressor function of the SEM-A3B gene in human lung and renal cancers. *PLoS One.* 2015; 10(5): e0123369. <https://doi.org/doi:10.1371/journal.pone.0123369>
16. Panagopoulou M., Karaglanis M., Balgouranidou I., Bizzioti E., Koukaki T., Karamitrousis E., et al. Circulating cell-free DNA in breast cancer: size profiling, levels, and methylation patterns lead to prognostic and predictive classifiers. *Oncogene.* 2019; 38(18): 3387-401. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0660-y>
17. Loginov V.I., Pronina I.V., Burdenny A.M., Filippova E.A., Kazubskaya T.P., Kushlinsky D.N., et al. Novel miRNA genes deregulated by aberrant methylation in ovarian carcinoma are involved in metastasis. *Gene.* 2018; 662: 28-36. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.04.005>
18. Loginov V.I., Burdenny A.M., Pronina I.V., Khokonova V.V., Kurelev S.V., Kazubskaya T.P., et al. Novel miRNA genes hypermethylated in breast cancer. *Molekulyarnaya biologiya.* 2016; 50(5): 705-9. (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S0026893316050101>
19. Rykov S.V., Khodyrev D.S., Pronina I.V., Kazubskaya T.P., Loginov V.I., Braga E.A. Novel miRNA genes methylated in lung tumors. *Genetika.* 2013; 49(7): 782-6. <https://doi.org/10.1134/S1022795413070119>
20. Vrba L., Muñoz-Rodríguez J.L., Stampfer M.R., Futscher B.W. miRNA gene promoters are frequent targets of aberrant DNA methylation in human breast cancer. *PLoS One.* 2013; 8(1): e54398. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054398>

Сведения об авторах:

Филиппова Е.А., канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП;
Бурденный А.М., канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП;
Лукина С.С., старший лаборант лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП;
Иванова Н.А., мл. науч. сотр. лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП;
Пronina И.В., канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП;
Казубская Т.П., доктор мед. наук, врач-онкогенетик, ст. науч. сотр. лаб. клинической онкогенетики ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Брага Э.А., доктор биол. наук, проф., гл. науч. сотр., зав. лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП;
Логинов В.И., канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП.

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-092

Алилуев А.В.¹, Семенова Л.Ю.², Порядин Г.В.², Манухина Е.Б.³⁻⁵, Дауни Г.Ф.^{4,5}, Горячева А.В.³, Мальцева Н.В.^{5,6}, Шемяков С.Е.², Карпенко М.Н.⁷, Пестерева Н.С.⁷, Кондашевская М.В.⁸, Цейликман В.Э.^{5,6}

Влияние адаптации к периодической гипоксии на обмен серотонина и показатели окислительного стресса в гиппокампе крыс при экспериментальном посттравматическом стрессовом расстройстве

¹ГБУЗ «Областной психоневрологический диспансер»,

456304, Челябинская область, г. Миасс, Россия, Гвардейская ул., д. 2;

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

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8;

⁴Отдел физиологии и анатомии, Центр медицинских наук Университета Северного Техаса, Форт-Уэрт, США, 76710, Бульвар Кэмп Боуи, 3500;

⁵ФГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет)», 454080, Челябинск, Россия, просп. им. В.И. Ленина, д. 76;

⁶ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», 454001, Челябинск, Россия, ул. Братьев Кашириных, д. 129;

⁷ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Санкт-Петербург, Россия, ул. Академика Павлова, д. 12;

⁸ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», 117418, Москва, Россия, ул. Цюрупы, д. 3

Введение. Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) формируется спустя длительный срок после переживания психической травмы. Имеются данные о низком уровне серотонина у больных ПТСР, который часто сочетается с окислительным стрессом, обусловленным нейровоспалением. Представляется актуальным поиск эффективных средств немедикаментозной коррекции ПТСР. Одним из высокоэффективных и наиболее широко используемых методов является адаптация к периодической гипоксии (АПГ).

Цель работы – исследование влияния АПГ на обмен серотонина и показатели окислительного стресса в гиппокампе животных при экспериментальном ПТСР.

Методика. Исследование выполнено на 34 половозрелых самцах крыс Вистар, которые были разделены на 4 группы («Контроль», «ПТСР», «АПГ», «ПТСР+АПГ»). В качестве модели экспериментального ПТСР была использована модель хронического предаторного стресса, где животные подвергались «запаху хищника» (кошачьей мочи) по 10 мин в течение 10 сут. После этого крыс адаптировали к периодической гипоксии в гипобарической барокамере в течение 14 сут, начиная с 30 мин в 1-е сут на симулированной высоте 1000 м, с постепенным увеличением «высоты» и времени экспозиции до 4000 м в течение 4 ч на 5-е сут и в последующие дни. Поведенческие реакции животных изучали при помощи теста «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). Концентрацию серотонина и его метаболита 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ГИУК) определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Содержание первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали спектрофотометрически согласно методике И.А. Волчегорского и соавт. Уровень окислительной деструкции белков оценивали по содержанию карбонилированных белков.

Результаты. При тестировании в ПКЛ было установлено, что у животных через 14 сут после завершения предаторного стресса по сравнению с контролем наблюдалось усиление тревожности, которое ограничивалось курсом АПГ. Одновременно с этим установлено снижение содержания серотонина и повышение уровня 5-ГИУК, что привело к существенному повышению метаболического индекса серотонина. Курс АПГ не привел к статистически значимым изменениям содержания серотонина и его метаболита по сравнению с контролем. В группе «ПТСР+АПГ» по сравнению с группой «ПТСР» отмечено повышение концентрации серотонина при одновременном снижении 5-ГИУК и метаболического индекса серотонина. Исследование окислительного стресса в гиппокампе животных с ПТСР-подобным состоянием показало повышение базального уровня карбонилированных белков по сравнению с контролем и увеличение содержания вторичных продуктов ПОЛ.

Заклучение. При экспериментальном ПТСР в гиппокампе снижение содержания серотонина ассоциировано с усилением его метаболизма, что сопровождается усилением окислительного стресса. Нейропротекторное действие АПГ выражается в нивелировании окислительного стресса в гиппокампе.

Ключевые слова: посттравматическое стрессорное расстройство; гипоксия; гиппокамп; серотонин; окислительный стресс

Для цитирования: Алилуев А.В., Семенова Л.Ю., Порядин Г.В., Манухина Е.Б., Дауни Г.Ф., Горячева А.В., Мальцева Н.В., Шемяков С.Е., Карпенко М.Н., Пестерева Н.С., Кондашевская М.В., Цейликман В.Э. Влияние адаптации к периодической гипоксии на обмен серотонина и показатели окислительного стресса в гиппокампе крыс при экспериментальном посттравматическом стрессовом расстройстве. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65 (3): 12-20.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.12-20

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Семенова Л.Ю., Порядин Г.В., Шемяков С.Е., Цейликман В.Э.; сбор и обработка материала – Алилуев А.В., Манухина Е.Б., Дауни Г.Ф., Горячева А.В., Карпенко М.Н., Пестерева Н.С., Кондашевская М.В.; подготовка иллюстративного материала – Алилуев А.В., Мальцева Н.В.; статистическая обработка результатов – Алилуев А.В., Мальцева Н.В.; написание текста – Алилуев А.В., Мальцева Н.В., Цейликман В.Э.; редактирование – Семенова Л.Ю., Порядин Г.В., Шемяков С.Е., Цейликман В.Э. Утверждение окончательного варианта статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Алилуев Анатолий Владимирович, e-mail: aliluev@semena74.com

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Челябинской области в рамках научного проекта № 20-415-740011.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.06.2021

Принята к печати 30.06.2021

Опубликована 30.09.2021

Aliluev A.V.¹, Semenova L.Yu.², Poryadin G.V.², Manukhina E.B.³⁻⁵, Downey H.F.^{4,5}, Goryacheva A.V.³, Maltseva N.V.^{5,6}, Shemyakov S.E.², Karpenko M.N.⁷, Pestereva N.S.⁷, Kondashevskaya M.V.⁸, Tseilikman V.E.^{5,6}

Effect of adaptation to intermittent hypoxia on serotonin metabolism and oxidative stress in the hippocampus of rats with experimental post-traumatic stress disorder

¹Regional Neuropsychiatric Center,
Gvardeyskaya St. 2, Miass 456304, Chelyabinsk Region, Russian Federation;

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University,
1 Ostrovityanova St., Moscow 117997, Russian Federation;

³Institute of General Pathology and Pathophysiology,
8 Baltiyskaya St., Moscow 125315, Russian Federation;

⁴University of North Texas Health Science Center,
3500 Camp Bowie Blvd, Fort Worth 76710, USA;

⁵South Ural State University,
76 Prospekt Lenina, Chelyabinsk 454080, Russian Federation;

⁶Chelyabinsk State University,
129 Bratjev Kashirinykh St., Chelyabinsk 454001, Russian Federation;

⁷Institute of Experimental Medicine,
Akademika Pavlova St. 12, St. Petersburg 197376, Russian Federation;

⁸Research Institute of Human Morphology,

3 Tsyurupy St., Moscow 117418, Russian Federation

Background. Post-traumatic stress disorder (PTSD) develops long after a mental traumatic event. In patients with PTSD, low serotonin levels often combine with oxidative stress-induced inflammation. Searching for effective non-pharmacological therapies for PTSD is important. Adaptation to intermittent hypoxia (AIH) is one of highly effective and widely used methods. The **aim** of this study was to elucidate the effect of AIH on serotonin metabolism and oxidative stress in the hippocampus of rats with PTSD.

Methods. The study was performed on 34 sexually mature male Wistar rats divided into 4 groups: control, PTSD, AIH, and PTSD+AIH. Experimental PTSD was modeled with chronic predator stress, where animals were exposed to predator smell (cat urine) for 10 days, 10 min daily. Then rats were conditioned in a hypobaric altitude chamber for 14 days at a 1,000-m simulated altitude for 30 min on day 1 with altitude and duration progressively increasing to 4,000 m for 4 h on day 5 and all the remaining days. Behavioral reactions of rats were studied with the elevated plus maze (EPM) test. Concentrations of serotonin and the serotonin metabolite, 5-hydroxy indole acetic acid (5-HIAA), were measured by high-performance liquid chromatography. Contents of primary and secondary lipid peroxidation (LPO) products were measured spectrophotometrically according to the method of I.A. Volchegorskiy et al. The oxidative damage to proteins was assessed by the content of carbonylated proteins.

Results. The EPM test showed that 14 days after the predator stress completion, the anxiety level was higher than in control, and this effect was alleviated by AIH. Also, stress-exposed rats had lower serotonin and higher 5-HIAA concentrations, which resulted in a significantly higher serotonin metabolic index compared to the control. The course of AIH did not cause any significant changes in concentrations of serotonin and its metabolite as compared to the control. In the PTSD + AIH group compared to the PTSD group, the serotonin concentration was increased whereas the 5-HIAA concentration and the metabolic serotonin index were decreased. Studying oxidative stress in the hippocampus of rats with the PTSD-like condition showed that both the basal level of carbonylated proteins and the content of LPO secondary products were increased compared to the control group.

Conclusions. In experimental PTSD in the hippocampus, the decrease in serotonin content was associated with the increase in its metabolism and with potentiation of oxidative stress. The neuroprotective effect of AIH was evident as alleviation of oxidative stress in the hippocampus.

Keywords: PTSD; hypoxia; hippocampus; serotonin; oxidative stress

For citation: Aliluev A.V., Semenova L.Yu., Poryadin G.V., Manukhina E.B., Downey H.F., Goryacheva A.V., Maltseva N.V., Shemyakov S.E., Karpenko M.N., Pestereva N.S., Kondashevskaya M.V., Tseilikman V.E. Effect of adaptation to intermittent hypoxia on serotonin metabolism and oxidative stress in the hippocampus of rats with experimental post-traumatic stress disorder. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(3): 12-20. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.12-20

Contribution: study concept and design – Semenova L.Yu., Poryadin G.V., Shemyakov S.E., Tseilikman V.E.; material collection and processing – Aliluev A.V., Manukhina E.B., Downey H.F., Goryacheva A.V., Karpenko M.N., Pestereva N.S., Kondashevskaya M.V.; preparation of illustrative materials: Aliluev A.V., Maltseva N.V.; statistical processing: Aliluev A.V., Maltseva N.V.; writing text: Aliluev A.V., Maltseva N.V., Tseilikman V.E.; editing: Semenova L.Yu., Poryadin G.V., Shemyakov S.E., Tseilikman V.E. Approval of the final version of the article – all co-authors.

For correspondence: **Anatoly V. Aliluev**, Psychiatrist, State Budgetary Healthcare Institution «Regional Psychoneurological Dispensary», 2 Gvardeyskaya Str., Miass, Chelyabinsk Region 456304, Russian Federation, e-mail: aliluev@semena74.com

Financing. The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research and by the Chelyabinsk Region as a part of scientific project # 20-415-740011.

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest. The materials of the article have not been published anywhere before.

Information about the authors:

Aliluev A.V., <https://orcid.org/0000-0003-1541-732X>
Semenova L.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-1000-0453>
Poryadin G.V., <https://orcid.org/0000-0003-2010-3296>
Manukhina E.B., <https://orcid.org/0000-0002-8102-173X>
Downey H.F., <https://orcid.org/0000-0002-7280-1021>
Shemyakov S.E., <https://orcid.org/0000-0001-6272-3026>
Karpenko M.N., <https://orcid.org/0000-0002-1082-0059>
Pestereva N.S., <https://orcid.org/0000-0002-3104-8790>
Kondashevskaya M.V., <https://orcid.org/0000-0004-3106-6840>
Tseilikman V.E., <https://orcid.org/0000-0001-6430-030X>

Received: 25.06.2021

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

Введение

Хронический стресс провоцирует развитие психосоматических расстройств [1]. Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) формируется спустя длительный срок после переживания психической травмы. Тем не менее, согласно критериям DSM V, между стрессорным событием и развитием посттравматического расстройства должна проследиваться отчетливая связь [2]. Комплексное посттравматическое расстройство инициируется хроническим стрессом, в котором организм не может эффективно реализовать реакцию «борьба-бегство» для преодоления пси-

хотравмирующего воздействия [3]. Ингибиторы обратного захвата серотонина (ИОЗС) зарекомендовали себя как наиболее эффективные средства среди фармакологических препаратов, используемых для коррекции ПТСР [4]. Прежде всего, их мишенью является серотониновый транспортер, локализованный в пресинаптических терминалях [5]. Соответственно, связываясь с ним, ИОЗС ограничивают откачивание серотонина из синаптической щели в пресинаптическую терминаль, где нейротрансмиттер подвергается окислительному дезаминированию моноаминок-

сидазой А (МАО-А). Высокая эффективность ИОЗС для ПТСР служит аргументом в пользу представлений о значении дефицита серотонина в мозге в патогенезе ПТСР. Серотонин играет роль в регулировании таких нейроэндокринных функций, как сон, аппетит, сексуальное поведение, агрессия/импульсивность, автоматические двигательные реакции. Кроме того, серотонин участвует в модуляции аффективных и стрессовых реакций, а также играет важную роль в развитии посттравматического стресса [6], выраженность которого варьируется в зависимости от интенсивности стрессора. Имеются клинические и экспериментальные данные о низком уровне серотонина у больных ПТСР [7, 8], который часто сочетается с окислительным стрессом, обусловленным нейровоспалением [9].

При ПТСР отмечается низкая эффективность лекарственной терапии [10]. В частности, даже ИОЗС которые считаются самыми результативными препаратами для коррекции ПТСР, обладают положительным терапевтическим действием лишь у весьма ограниченной когорты больных [11]. Поэтому в настоящее время представляется актуальным поиск эффективных средств немедикаментозной коррекции ПТСР. Одним из высокоэффективных и наиболее широко используемых методов активации стресс-лимитирующих систем и повышения резистентности к различным видам стресса является адаптация к периодической гипоксии (АПГ) [12]. АПГ обладает выраженным нейропротекторным действием. Так, АПГ предупреждает поведенческие нарушения и защищает нейроны мозга при экспериментальной эпилепсии, паркинсонизме и болезни Альцгеймера [13]. При этом нейропротекторный эффект АПГ сопровождается ограничением окислительного стресса. Ранее нами было показано, что АПГ предупреждает развитие тревожности на модели посттравматического стрессового расстройства у крыс [14]. Однако механизмы протекторного действия АПГ остаются неизвестными. Одной из возможных мишеней адаптации к периодической гипоксии является серотонинергическая система ЦНС. Также вероятно, что АПГ одновременно приводит к ограничению окислительного стресса. **Цель работы** – исследование влияния АПГ на обмен серотонина и показатели окислительного стресса в гиппокампе крыс с экспериментальным ПТСР.

Методика

Исследование выполнено в осенне-зимний период на 34 половозрелых самцах крыс Вистар, содержащихся в отдельных клетках, не более 9 особей в каждой. Все экспериментальные процедуры проводили в соответ-

ствии с регламентом декларации ЕС от 2010 г. об использовании лабораторных животных.

Было сформировано 4 группы животных: 1-я группа «КОНТРОЛЬ» – интактные животные, 2-я группа «ПТСР» – крысы, у которых моделировали ПТСР, 3-я группа «АПГ» – животные, подвергнутые АПГ, 4-я группа «ПТСР+АПГ» – животные, у которых моделировали ПТСР, а затем подвергали АПГ.

В качестве модели экспериментального ПТСР была использована модифицированная модель предаторного стресса Н. Cohen и соавт. [15], в которой было изменено количество экспозиций «запаха хищника» (кошачьей мочи) с одного до 10 раз. Животные подвергались стрессу ежедневно в течение 10 мин [16]. Мочевые метки взрослого домашнего кота предьявлялись в чашках Петри, накрытых медицинской марлей, животным группы «ПТСР» и «ПТСР+АПГ». Животным из групп «КОНТРОЛЬ» и «АПГ» предьявляли чашку Петри с питьевой водой.

Адаптации к гипоксии подвергались крысы из групп «АПГ» и «ПТСР+АПГ». Крыс кондиционировали с помощью гипобарической барокамеры в течение 14 сут подряд на высоте 4000 м над уровнем моря (барометрическое давление 748 мм рт. ст., парциальное давление O_2 159 мм рт. ст.) [17]. АПГ начинали на следующий день после завершения 10-суточного воздействия предаторного стресса. В 1-е сут крыс подвергали воздействию высоты 1000 м (барометрическое давление 680 мм рт. ст., парциальное давление O_2 140 мм рт. ст.) в течение 30 мин; на 2-е сут – 2000 м (барометрическое давление 600 мм рт. ст.; парциальное давление O_2 125 мм рт. ст.) в течение 1 ч; на 3-и сут – 3000 м (барометрическое давление 530 мм рт. ст.; парциальное давление O_2 110 мм рт. ст.) в течение 1,5 ч; на 4-е сут – 4000 м (барометрическое давление 460 мм рт. ст.; парциальное давление O_2 98 мм рт. ст.) в течение 2 ч; на 5-е сут – 4000 м в течение 3 ч и с 6-х по 14-е сутки – 4000 м за 4 ч скорость «подъема» на расчетную высоту не превышала 15 м/с.

Поведенческие реакции животных исследовали в конце эксперимента при помощи теста «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). В этом тесте регистрировали в течение 600 с время нахождения в открытых и закрытых рукавах, а также число заходов в открытые и закрытые рукава. Индекс тревожности (ИТ), определяющий наличие тревожных расстройств, вычисляли по формуле:

$$ИТ = 1 - \left\{ \left(\frac{\text{время в открытых рукавах}}{\sum \text{время в лабиринте}} \right) + \left(\frac{\text{количество входов в открытые рукава}}{\sum \text{количество всех входов}} \right) \right\} / 2$$

Концентрацию серотонина и его метаболита 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ГИУК) определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Образцы ткани гиппокампа гомогенизировали в 0,1М хлорной кислоте и центрифугировали при 10 000 g и +4 °C в течение 30 мин. Супернатант отбирали и фильтровали через шприцевой фильтр с размером пор 0,2 мкм (Whatman, США). На анализ брали 20 мкл образца. Анализ проводили в изократических условиях с использованием обращённо-фазовой колонки (длина алкильной цепи C_{18}) с последующей электрохимической детекцией. Электрохимическая детекция осуществлялась стеклоуглеродным электродом при +700 мВ. Количество серотонина и 5-ГИУК в образце выражали в пг/мг ткани.

Содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали спектрофотометрически согласно методике И.А. Волчегорского и соавт. [18]. Измерение оптической плотности пробы проводили при длинах волн 220 и 232 нм против соответствующего оптического контроля в кварцевых кюветах толщиной 1 см. Полученные результаты представлены в виде индекса окисления $-E_{232}/E_{220}$ (кетодиены и сопряженные триены).

Уровень окислительной деструкции белков оценивали по содержанию карбонилированных белков [19]. Для определения уровня спонтанной и металл-катализируемой окислительной модификации белков использовали 0,1 мл 10% гомогената исследуемой ткани. После обработки ТХУ, в первую порцию (опыт) добавляли 0,1 мл 0,1М раствора 2,4-динитрофенилгидразина (2,4-ДНФГ), а во вторую порцию (контроль) — 0,1 мл 2М раствора HCl. Далее пробы инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре и для получения белкового осадка центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Осадок промывали 2 раза в 5 мл смеси этанол-этилацетат (1:1) для экстракции липидов и 2,4-ДНФГ, который не прореагировал с карбонильными группами модифицированных белков. Полученный очищенный осадок высушивали для удаления растворителей и растворяли в 2,5 мл 8М раствора мочевины. Для лучшего растворения белкового осадка в каждую пробу добавляли 15 мкл 2М раствора HCl. Оптическую плотность полученных растворов измеряли при 270 и 370 нм.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью однофакторного дисперсионного анализа (One-Way ANOVA) с использованием post-hoc критерия Tukey для сравнения значимости различий между группами. Предварительно проводилась проверка выборки на нормальность распределения (критерий Ша-

пиро-Уилка). Изучение взаимосвязей проводили путем расчета коэффициента корреляции по Спирмену (r_s) при критическом уровне $p=0.05$.

Результаты

При тестировании в ПКЛ было установлено, что у животных через 14 сут после завершения предаторного стресса (группа «ПТСР») по сравнению с контролем наблюдалось усиление тревожности, которое выражалось в увеличении времени нахождения в закрытых ($p < 0.001$) и снижении времени пребывания в открытых рукавах ($p = 0.015$) лабиринта. Установлено, что в группе «ПТСР» ИТ был выше, чем в контроле ($p = 0.035$) (табл. 1).

Курс АПГ у животных в отсутствие стресса (группа «АПГ») сопровождался следующими изменениями по сравнению с контролем: а) уменьшением времени нахождения в закрытых рукавах ($p < 0.001$); б) полторократным увеличением времени нахождения в открытых рукавах ($p < 0.001$); в) снижением значения ИТ по сравнению с контролем ($p = 0.035$).

У животных группы «ПТСР+АПГ» по сравнению с группой «ПТСР» прослеживались следующие изменения показателей теста крестообразный лабиринт: а) уменьшение времени пребывания в закрытых рукавах ($p < 0.001$); б) увеличение времени нахождения в открытых рукавах ($p < 0.001$); в) снижение значения ИТ ($p = 0.04$). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о способности курса АПГ ограничивать постстрессорную тревожную симптоматику (табл. 1).

В гиппокампе животных, перенесших стресс (группа «ПТСР»), установлено снижение содержания серотонина по сравнению с контролем (табл. 2). Одновременно отмечено повышение концентрации основного метаболита серотонина — 5-ГИУК ($p < 0.001$). Это привело к существенному повышению метаболического индекса серотонина ($p < 0.001$). Обращает на себя внимание наличие отрицательной корреляции между индексом тревоги и концентрацией серотонина ($r = -0.66$; $p < 0.05$).

Курс АПГ не привел к статистически значимым изменениям содержания серотонина и его метаболита по сравнению с контролем.

В группе «ПТСР+АПГ» по сравнению с группой «ПТСР» отмечено повышение концентрации серотонина ($p < 0.001$) при одновременном снижении основного серотонинового метаболита 5-ГИУК ($p < 0.001$) и метаболического индекса серотонина ($p = 0.033$).

Исследование окислительного стресса в гиппокампе животных с ПТСР-подобным состоянием показало повышение базального уровня карбонилиро-

Таблица 1

Влияние адаптации к периодической гипоксии на поведенческую активность

Показатель/Группа	КОНТРОЛЬ <i>n</i> =7	ПТСР <i>n</i> =9	АПГ <i>n</i> =9	ПТСР+АПГ <i>n</i> =9
Время в открытых рукавах, с	74.6±9.5	30.0±6.42 *	112.7±24.5*	62.7±9.5 #
Время в закрытых рукавах, с	525.4±78.3	570.0±19.6*	487.3±62.8*	537.3±15.2#
Количество заходов в открытые рукава	3.3±0.4	2.9±0.3	3.2±0.5	3.3±0.6
Количество заходов в закрытые рукава	6.4±0.6	6.2±0.7	6.9±0.3	7.0±0.6
Индекс тревожности (ИТ)	0.76±0.05	0.82±0.07 *	0.67±0.06 *	0.78±0.07 #

Примечание. КОНТРОЛЬ – интактные животные, ПТСР – крысы, у которых моделировали ПТСР, АПГ – животные, подвергнутые адаптации к периодической гипоксии, ПТСР+АПГ – животные, у которых моделировали ПТСР, а затем подвергали адаптации к периодической гипоксии. * – достоверные отличия от контроля, # – достоверные различия между группами «ПТСР» и «ПТСР+АПГ», *p* < 0.05.

Table 1

Effect of adaptation to intermittent hypoxia on behavioral activity

Indicator/Group	Control <i>n</i> =7	PTSD <i>n</i> =9	AIH <i>n</i> =9	PTSD + AIH <i>n</i> =9
Time spent in the open arms, sec.	74.6±9.5	30.0±6.42 *	112.7±24.5*	62.7±9.5 #
Time spent in closed arms, sec.	525.4±78.3	570.0±19.6*	487.3±62.8*	537.3±15.2#
The number of entries into open arms	3.3±0.4	2.9±0.3	3.2±0.5	3.3±0.6
The number of entries into closed arms	6.4±0.6	6.2±0.7	6.9±0.3	7.0±0.6
Anxiety index (IA)	0.76±0.05	0.82±0.07 *	0.67±0.06 *	0.78±0.07 #

Notes. CONTROL, intact rats; PTSD, rats with experimental PTSD; AIH, rats adapted to intermittent hypoxia; PTSD+AIH, rats with experimental PTSD exposed to AIH.

**p* < 0.05, significant differences from control; #*p* < 0.05, significant differences between groups PTSD and PTSD+AIH.

Таблица 2

Влияние адаптации к периодической гипоксии на метаболизм серотонина в гиппокампе

Показатель/Группа	КОНТРОЛЬ <i>n</i> =7	ПТСР <i>n</i> =9	АПГ <i>n</i> =9	ПТСР+АПГ <i>n</i> =9
Серотонин, пг/мг ткани	170.6±21.4	108.3±13.6*	164.1±24.4	151.5±12.8 #
5-ГИУК, пг/мг ткани	470.3±32.7	778.8±79.9*	528.6±63.6	488.0±44.8 #
Метаболический индекс серотонина, у.е.	2.7±0.7	7.1±0.4 *	3.2±0.2	3.2±0.6 #

Примечание. КОНТРОЛЬ – интактные животные, ПТСР – крысы, у которых моделировали ПТСР, АПГ – животные, подвергнутые адаптации к периодической гипоксии, ПТСР+АПГ – животные, у которых моделировали ПТСР, а затем подвергали адаптации к периодической гипоксии.

* – достоверные отличия от контроля, # – достоверные различия между группами «ПТСР» и «ПТСР+АПГ», *p* < 0.05.

Table 2

Effect of adaptation to intermittent hypoxia on serotonin metabolism

Indicator/Group	Control <i>n</i> =7	PTSD <i>n</i> =9	AIH <i>n</i> =9	PTSD + AIH <i>n</i> =9
Serotonin (pg/mg tissue)	170.6±21.4	108.3±13.6*	164.1±24.4	151.5±12.8 #
5-HIAA pg/mg tissue	470.3±32.7	778.8±79.9*	528.6±63.6	488.0±44.8 #
Metabolic index of serotonin, conv. units	2.7±0.7	7.1±0.4 *	3.2±0.2	3.2±0.6 #

Notes. CONTROL, intact rats; PTSD, rats with experimental PTSD; AIH, rats adapted to intermittent hypoxia; PTSD+AIH, rats with experimental PTSD exposed to AIH.

**p* < 0.05, significant differences from control; #*p* < 0.05, significant differences between groups PTSD and PTSD+AIH.

ванных белков по сравнению с контролем ($p < 0.001$) (табл. 3). После инкубации в системе Фэнтонна содержание карбонилированных белков значительно повышалось ($p < 0.001$). Вместе с тем, у животных, перенесших стресс, отмечен повышенный уровень ПОЛ относительно контроля, который выражался в увеличении содержания вторичных продуктов ПОЛ ($p < 0.001$). При этом отмечена положительная корреляция между содержанием этой категории продуктов ПОЛ и величиной ИТ ($r = 0.73$; $p < 0.05$).

Курс АПГ сам по себе не оказывал влияния на содержание молекулярных продуктов ПОЛ и уровень карбонилированных белков. Но АПГ значительно ограничивала окислительный стресс в гиппокампе животных, перенесших стресс (группа «ПТСР + АПГ»), что было видно по 14%-му снижению продуктов ПОЛ и 23%-му снижению окисляемости белка в группе «ПТСР + АПГ» по сравнению с группой ПТСР ($p = 0.002$).

Обсуждение

Патогенез ПТСР включает в себя нарушения межнейронных связей гиппокампа с префронтальной корой и амигдалой [20]. При этом дестабилизация серотонинергической системы является критическим фактором в разбалансировке оси «гиппокамп-амигдала». Как известно,

амигдала является основным «драйвером» тревожности. Поэтому обнаруженная нами обратная корреляция между содержанием серотонина в гиппокампе и величиной ИТ представляется вполне закономерной. Характерные поведенческие реакции у животных свидетельствуют о наличии тревожных расстройств и демонстрируют редукцию размеров гиппокампа у больных ПТСР. Известно, что ПТСР сопровождается сниженным уровнем кортизола и повышенным уровнем провоспалительных цитокинов [21]. В частности, при экспериментальном ПТСР отмечено увеличение экспрессии IL-1 в гиппокампе [22]. Провоспалительные цитокины вызывают окислительный стресс [23], который может развиваться у больных ПТСР на фоне длительного гипокортикозолизма. Характерной особенностью окислительного стресса при сниженном уровне глюкокортикоидов является увеличение содержания базальных или индуцированных карбонилированных белков, что и наблюдалось на этой экспериментальной модели ПТСР. Одновременно выявили высокое содержание вторичных продуктов ПОЛ (кетодиенов и сопряженных триенов), которые являются высокотоксичными для клеток гиппокампа [18]. Скорее всего, повышенный уровень свободнорадикального окисления отражает деструктивные процессы в гиппокампе при экспериментальном ПТСР.

Таблица 3

Влияние адаптации к периодической гипоксии на окислительный стресс в гиппокампе

Показатель/Группа	КОНТРОЛЬ <i>n</i> =7	ПТСР <i>n</i> =9	АПГ <i>n</i> =9	ПТСР+АПГ <i>n</i> =9
Кетодиены и сопряженные триены (E_{278}/E_{220})	0.037±0.005	0.045±0.001 *	0.034±0.0027	0.038±0.006#
Карбонилированные белки (базальный уровень; нМ/гр белка)	58.5±12.8	91.8±31.5 *	67.5±6.5	55.3±44.7 #
Карбонилированные белки (индукция Fe^{2+}/H_2O_2 ; нМ/гр белка)	97.5±16.5	230.8±45.7 *	120.4±23.8	84.8±9.5 #

Примечание. Контроль – интактные животные, ПТСР – крысы, у которых моделировали ПТСР, АПГ – животные, подвергнутые адаптации к периодической гипоксии, ПТСР+АПГ – животные, у которых моделировали ПТСР, а затем подвергали адаптации к периодической гипоксии; * – достоверные отличия по сравнению с контролем, # – достоверные отличия между группами «ПТСР» и «ПТСР+АПГ», $p < 0.05$.

Table 3

Effect of adaptation to intermittent hypoxia on oxidative stress in the hippocampus of animals

Indicator/Group	Control <i>n</i> =7	PTSD <i>n</i> =9	AIH <i>n</i> =9	PTSD + AIH <i>n</i> =9
Ketodienes and conjugated trienes (E_{278}/E_{220})	0.037±0.005	0.045±0.001 *	0.034±0.0027	0.038±0.006#
Carbonylated proteins (basal level; nM/g protein)	58.5±12.8	91.8±31.5 *	67.5±6.5	55.3±44.7 #
Carbonylated proteins (induction Fe^{2+}/H_2O_2 ; nM/g)	97.5±16.5	230.8±45.7 *	120.4±23.8	84.8±9.5 #

Notes. CONTROL, intact rats; PTSD, rats with experimental PTSD; AIH, rats adapted to intermittent hypoxia; PTSD+AIH, rats with experimental PTSD exposed to AIH.

* $p < 0.05$, significant differences from control; # $p < 0.05$, significant differences between groups PTSD and PTSD+AIH.

Повреждения в гиппокампе при экспериментальном ПТСР сопровождаются снижением в нем содержания серотонина. Возможно, это связано с увеличением его обратного транспорта с последующим окислительным дезаминированием MAO-A.

АПГ сама по себе не оказывала значимого влияния на показатели серотонинового метаболизма и окислительного стресса. Однако АПГ нивелировала эффекты предаторного стресса в гиппокампе, что можно рассматривать как важное проявление упомянутого ранее нейропротекторного эффекта АПГ. Вероятно, защитное действие АПГ в отношении гиппокампа связано с ограничением окислительного стресса и, как следствие, нейровоспаления. Купирование окислительного стресса способствует стабилизации метаболизма серотонина в гиппокампе. Принципиально важно, что АПГ приводит к резкому снижению метаболического индекса серотонина у животных, перенесших стресс, который рассматривается как косвенный показатель обратного захвата серотонина [24]. Следовательно, АПГ может оказывать аналогичное ИОЗС влияние на серотонинергическую систему, что позволяет рассматривать АПГ в качестве альтернативы фармакологической коррекции ПТСР.

Выводы

1. При экспериментальном ПТСР в гиппокампе снижение содержания серотонина ассоциировано с усилением его метаболизма.

2. При экспериментальном ПТСР в гиппокампе усиление метаболизма серотонина ассоциировано с усилением окислительного стресса.

3. Нейропротекторное действие АПГ при экспериментальном ПТСР выражается в нивелировании окислительного стресса в гиппокампе.

4. Протекторное действие АПГ в отношении тревожной симптоматики ПТСР сопровождается стабилизацией метаболизма серотонина в гиппокампе.

Литература

(п.п. 1-17; 20-24 см. References)

18. Волчегорский И.А. и др. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск; Издательство ЧГПУ; 2000.
19. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса. *Вопросы медицинской химии*. 2001; 47(6): 561-81.

References

1. Fava G.A., Cosci F., Sonino N. Current Psychosomatic Practice. *Psychother Psychosom*. 2017; 86(1): 13-30.

2. Cheng C.H., Lee S.S., Lee S.K., Bray C., Zimmerman T., Gewirtz A.H. A Conversion Crosswalk for the UCLA PTSD Reaction Index: Translating DSM-IV to DSM-5. *J Trauma Stress*. 2021; 34(4): 872-9.
3. Ford J.D., Courtois C.A. Complex PTSD and borderline personality disorder. *Borderline Personal Disord Emot Dysregul*. 2021; 8(1): 16.
4. McDermott T.J., Lee J.Y., Paquet C.P., Huber F.A., Sitz A.L., Robertson K., et al. Exposure, relaxation, and rescripting therapy could treat residual nightmares following PTSD treatment. *Psychiatry Res*. 2021 Jan; 295:113630.
5. Jannini T.B., Di Lorenzo G., Bianciardi E., Niolu C., Toscano M., Ciocca G. et al. Off-label uses of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs). *Curr Neuropharmacol*. 2021 May 17.
6. Bamanan O.A., Al Khalili Y. *Physiology, Serotonin*. 2021 Mar 25. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021. Jan.
7. Spivak B., Vered Y., Graff E., Blum I., Mester R., Weizman A. Low platelet-poor plasma concentrations of serotonin in patients with combat-related posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*. 1999; 45(7): 840-5.
8. Wilson C.B., Ebenezer P.J., McLaughlin L.D., Francis J. Predator exposure/psychosocial stress animal model of post-traumatic stress disorder modulates neurotransmitters in the rat hippocampus and prefrontal cortex. *PLoS One*. 2014; 9(2): e89104.
9. Pavlov D., Bettendorff L., Gorlova A., Olkhovik A., Kalueff A.V., Ponomarev E.D. et al. Neuroinflammation and aberrant hippocampal plasticity in a mouse model of emotional stress evoked by exposure to ultrasound of alternating frequencies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019; 90: 104-16.
10. Ehret M. Treatment of posttraumatic stress disorder: Focus on pharmacotherapy. *Ment Health Clin*. 2019; 9 (6): 373-82.
11. Illingworth B.J., Lewis D.J., Lambarth A.T., Stocking K., Duffy J.M., Jelen L.A., et al. A comparison of MDMA-assisted psychotherapy to non-assisted psychotherapy in treatment-resistant PTSD: A systematic review and meta-analysis. *J Psychopharmacol*. 2021; 35(5): 501-11.
12. Meerson F.Z. *Essentials of adaptive medicine: protective effects of adaptation*. Moscow; Hypoxia Medical LTD; 1994.
13. Manukhina E.B., Goryacheva A.V., Smirin B.V., Malyshev I.Yu., Budanova O.P., Downey H.F. Prevention of cerebrovascular and neurodegenerative disorders by adaptation to hypoxia in Alzheimer's disease. *Adaptation Biology and Medicine*. 2017; 8: 241-260514.
14. Manukhina E.B., Tseilikman V.E., Tseilikman O.B., Komelkova M.V., Kondashevskaya M.V., Goryacheva A.V., et al. Intermittent hypoxia improves behavioral and adrenal gland dysfunction induced by posttraumatic stress disorder in rats. *J Appl Physiol* (1985). 2018; 125(3): 931-7.
15. Cohen H., Kozlovsky N., Alona C., Matar M.A., Joseph Z. Animal model for PTSD: From clinical concept to translational research. *Neuropharmacology*. 2012; 62: 715-24.
16. Tseilikman V., Dremencov E., Maslennikova E., Ishmatova A., Manukhina E., Downey H.F., et al. Post-traumatic stress disorder chronification via monoaminoxidase and cortisol metabolism. *Horm. Metab. Res*. 2019; 51: 618-22.
17. Goryacheva A.V., Kruglov S.V., Pshennikova M.G., Smirin B.V., Malyshev I.Yu., Barskov I.V., et al. Adaptation to intermittent hypoxia restricts nitric oxide overproduction and prevents beta-amyloid toxicity in rat brain. *Nitric Oxide*. 2010; 23: 289-99.
18. Volchegorskiy I.A., et al. *Experimental modeling and laboratory evaluation of adaptive reactions of the body*. Chelyabinsk; Publishing House, CHGPU. [Экспериментальное моделирование и лабораторная

- otsenka adaptivnykh reaksiiy organizma*]. Chelyabinsk; Izdatel'stvo CHGPU, 2000.
19. Dubinina E.E. The role of reactive oxygen species as signaling molecules in tissue metabolism under conditions of oxidative stress. *Voprosy meditsinskoj khimii*. 2001; 47(6): 561-81.
 20. Pitman R.K., Rasmusson A.M., Koenen K.C., Shin L.M., Orr S.P., Gilbertson M.W., et al. Biological studies of post-traumatic stress disorder. *Nat Rev Neurosci*. 2012; 13(11): 769-87.
 21. Sagarwala R., Nasrallah H.A. Changes in inflammatory biomarkers before and after SSRI therapy in PTSD: A review. *Ann Clin Psychiatry*. 2019; 31(4): 292-7.
 22. Jones M.E., Lebonville C.L., Paniccia J.E., Balentine M.E., Reissner K.J., Lysle D.T. Hippocampal interleukin-1 mediates stress-enhanced fear learning: A potential role for astrocyte-derived interleukin-1 β . *Brain Behav Immun*. 2018; 67: 355-63.
 23. Aimo A., Castiglione V., Borrelli C., Saccaro L.F., Franzini M., Masi S., et al. Oxidative stress and inflammation in the evolution of heart failure: From pathophysiology to therapeutic strategies. *Eur J Prev Cardiol*. 2020; 27(5): 494-510.
 24. Slotkin T.A., Seidler F.J. A unique role for striatal serotonergic systems in the withdrawal from adolescent nicotine administration. *Neurotoxicol Teratol*. 2007; 29(1): 10-6.

Сведения об авторах:

Алилуев Анатолий Владимирович, врач-психиатр, e-mail: aliluev@semena74.com;

Семенова Людмила Юрьевна, доктор мед. наук, проф. каф. патофизиологии и клинической патофизиологии, e-mail: semenovaly@mail.ru;

Порядин Геннадий Васильевич, доктор мед. наук, проф., чл.-корр. РАН;

Манухина Евгения Борисовна, доктор биол. наук, проф., гл. науч. сотр., e-mail: manukh@mail.ru ;

Дауни Гарри Фред, доктор биол. наук, проф., e-mail: freddowney@yahoo.com;

Горячева Анна Владимировна, науч. сотр., e-mail: goryacheva@mail.ru;

Мальцева Наталья Васильевна, канд. мед. наук, доцент, ст. науч. сотр., заместитель декана факультета фундаментальной медицины, e-mail: malinanv_1@mail.ru;

Шемяков Сергей Евгеньевич, доктор мед. наук, проф., зав. каф. анатомии человека;

Карпенко Марина Николаевна, канд. биол. наук, зав. лаб., e-mail: mnkarpenko@mail.ru;

Пестерева Нина Сергеевна, аспирант, науч. сотр., e-mail: pesterevans@yandex.ru;

Кондашевская Марина Владиславовна, доктор биол. наук, гл. науч. сотр., e-mail: marivladiko@mail.ru;

Цейликман Вадим Эдуардович, доктор биол. наук, проф., директор Высшей медико-биологической школы, e-mail: vadimed@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-092:612.273.2:612.223.11-092.4

Куликов В.П.,¹ Каланова Л.А.,¹ Трегуб П.П.^{1,2}

Потенцирование гиперкапнической гипоксии при комбинации с фармакологическими нейропротекторами

¹ООО «Алтайский медицинский институт последипломного образования»,
656043, Барнаул, Россия, ул. Ползунова, д. 34а;

²ФГБНУ «Научный центр неврологии»,
125367, Москва, Россия, Волоколамское шоссе, д. 80

Цель исследования – изучение возможности потенцирования нейропротекторного эффекта гиперкапнической гипоксии при помощи комбинации с фармакологическими активаторами основных механизмов, увеличивающих толерантность головного мозга к ишемии/гипоксии.

Методика. Исследования проводились на 140 крысах-самцах Wistar, которые подвергались курсам респираторных воздействий гиперкапнической гипоксии (P_{O_2} – 90 мм рт. ст.; P_{CO_2} – 50 мм рт. ст.) в течении 5 сут по 30 мин ежедневно. После завершения курса тренировок крысам вводили фармакологические препараты (активатор аденозиновых рецепторов, блокатор карбоангидразы, активатор опиоидных рецепторов, блокатор ангиотензин-превращающего фермента) и через 24 ч производилась билатеральная окклюзия общих сонных артерий, а через 72 ч производился подсчет поврежденных/целевых клеток в СА1 регионе гиппокампа.

Результаты. Морфологическая оценка выживаемости нейронов показала, что применение эналаприла усиливало нейропротекторный эффект гиперкапнической гипоксии, применение АТФ и даларгина не показало значимого прироста эффективности, а блокатор карбоангидразы ацетазоламид полностью устранял нейропротекторный эффект респираторных тренировок.

Заключение. Выраженным потенцирующим эффектом на нейропротекцию, обусловленную респираторными тренировками с гиперкапнической гипоксией, обладает ее комбинация с ингибитором АПФ (эналаприлом).

Ключевые слова: потенцирование; нейропротекция; гипоксия; гиперкапния; эналаприл

Для цитирования: Куликов В.П., Каланова Л.А., Трегуб П.П. Потенцирование защитного эффекта гиперкапнической гипоксии при комбинации с фармакологическими нейропротекторами. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(3): 21-25.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.21-25

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Куликов В.П., Каланова Л.А., Трегуб П.П.; сбор и обработка материала – Каланова Л.А., Трегуб П.П.; написание текста – Куликов В.П., Трегуб П.П.; редактирование – Трегуб П.П. Утверждение окончательного варианта статьи – все авторы.

Для корреспонденции: Трегуб Павел Павлович, e-mail: pfiza_asmu@mail.ru

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

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 05.10.2020

Принята к печати 30.06.2021

Опубликована 30.09.2021

Kulikov V.P.¹, Kalanova L.A.¹, Tregub P.P.^{1,2},

Potential of the protective effect of hypercapnic hypoxia in combination with pharmacological neuroprotective agents

¹ООО «Altai Medical Institute of Postgraduate Education»,
Polzunova St. 34a, Barnaul 656043, Russian Federation;

²Scientific Center of Neurology,
Volokolamskoe Shosse 80, Moscow 125367, Russian Federation

Aim. We studied the possibility of potentiating the neuroprotective effect of hypercapnic hypoxia using a combination with pharmacological activators of major mechanisms that increase the brain tolerance to ischemia/hypoxia.

Methods. Studies were carried out on 140 male Wistar rats conditioned with respiratory hypercapnic hypoxia (P_{O_2} – 90 mm Hg; P_{CO_2} – 50 mm Hg) for 5 days, 30 min daily. After this exposure, the rats were injected with a drug (adenosine receptor activator (ATP), carbonic anhydrase blocker (acetazolamide), opioid receptor activator (dalargin), angiotensin converting enzyme (ACE) blocker

(enalapril). 24 hrs later, the common carotid arteries were occluded bilaterally. 72 hrs after drug injection, the damaged/surviving cells in the CA1 region of the hippocampus were counted.

Results. Morphological evaluation of neuronal survival showed that enalapril enhanced the neuroprotective effect of hypercapnic hypoxia. ATP and dalargin did not significantly increase this effect, and acetazolamide completely eliminated this neuroprotective effect.

Conclusion. Thus, the neuroprotective effect of hypercapnic hypoxia conditioning was potentiated by its combination with an ACE inhibitor.

Keywords: potentiation; neuroprotection; hypoxia; hypercapnia; enalapril

For citation: Kulikov V.P., Kalanova L.A., Tregub P.P. Potentiation of the protective effect of hypercapnic hypoxia in combination with pharmacological neuroprotective agents. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(3): 21-25. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.21-25

Contribution: research concept and design – Kulikov V.P., Kalanova L.A., Tregub P.P.; material collecting – Kalanova L.A., Tregub P.P.; writing text – Kulikov V.P., G.P., Tregub P.P.; text editing – Tregub P.P.

For correspondence: Pavel P. Tregub, PhD, Principal Researcher, Laboratory of Experimental Neurocytology, Scientific Center of Neurology; Volokolamskoe Shosse, 80, 125367, Moscow, Russian Federation, e-mail: pfiza_asmu@mail.ru

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

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

Information about the authors:

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

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

Received: 05.10.2020

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

Введение

Известно, что интермиттирующие гипоксические воздействия являются эффективным средством увеличения толерантности головного мозга к ишемии [1–3]. Ранее было показано, что эффективность сочетанного воздействия гипоксии и гиперкапнии для увеличения толерантности головного мозга к гипоксии/ишемии значительно выше, чем при их изолированном воздействии [4]. Однако, для формирования устойчивой ишемической толерантности необходимо проводить не менее 3-7 сеансов гиперкапнически-гипоксических респираторных воздействий [4], что ограничивает варианты их клинического применения. Поэтому актуальной научной задачей является поиск и разработка способов потенцирования эффектов гиперкапнической гипоксии.

Перспективным вариантом для потенцирования защитной эффективности респираторных тренировок представляется комбинация гиперкапнически-гипоксических воздействий с фармакологическими активаторами базовых нейропротекторных механизмов. На основании данных о нейропротекторных механизмах гиперкапнической гипоксии (ГГ) можно выделить сигнальные пути, дополнительная стимуляция которых имеет потенциал для усиления защитных эффектов при сочетании с респираторными воздействиями [5]. К таким механизмам относятся, например, акти-

вация аденозиновых рецепторов и АТФ-зависимых калиевых каналов [5]. Эффективное потенцирование может также вызывать пролонгация эффекта гиперкапнии при блокировании карбоангидразы [6]. Кроме того, базовые механизмы представлены сигнальными путями, которые остаются не вовлеченными в нейропротекцию при воздействии интермиттирующей гиперкапнической гипоксии [7]. В их числе, например, активация $\delta 2$ -опиодных рецепторов [8] и блокирование ангиотензин-превращающего фермента [9]. Фармакологическое модулирование этих сигнальных путей в комбинации с респираторными воздействиями может вызывать суммирование их протекторных эффектов.

Цель исследования – оценка возможности потенцирования нейропротекторного эффекта гиперкапнической гипоксии при помощи комбинации с фармакологическими активаторами основных механизмов, увеличивающих толерантность головного мозга к ишемии/гипоксии.

Методика

Исследования осуществлялись на 140 крысах-самцах Wistar (Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия), средней массой 250–300 г. Эксперименты были одобрены биоэтической комиссией Локального этического комитета КрасГМУ и прово-

дились в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. Крысы находились в клетках при контролируемой комнатной температуре ($\sim 23^\circ\text{C}$) и естественном освещении. У крыс был свободный доступ к еде и воде. До и после экспериментов животные взвешивались.

Животные были рандомизированы на 7 равных групп по 20 животных в каждой: ложно-оперированная контрольная группа (Con-Sham/O); контроль с ишемическим повреждением (Con-Ischemia); группа воздействий гиперкапнической гипоксии (HyperH) и 4 группы воздействия гиперкапнической гипоксии в сочетании с разными фармакологическими препаратами:

группа HyperH+ATP с активатором аденозиновых рецепторов (Аденозин трифосфата динатриевая соль, 2 мг [10];

группа HyperH+AcA с блокатором карбоангидразы – ацетазоламидом (30 мг/кг) [6];

группа HyperH+Dal с активатором опиоидных рецепторов – даларгином (0,5 мг/кг) [11];

группа HyperH+Enap с блокатором ангиотензин-превращающего фермента эналаприлом (0,1 мг/кг) [9]. Респираторные воздействия у крыс проводились в специальной камере, описанной ранее [4], в течение 5 сут по 30 мин ежедневно. Через 24 ч после завершения курсов респираторных воздействий животным внутривенно вводились фармакологические препараты или физиологический раствор, соответственно назначению группы, а еще через 24 ч у животных всех групп производилась билатеральная окклюзия общих сонных артерий на 20 мин, кроме ложно-оперированной группы, где во время хирургического вмешательства окклюзия не выполнялась [12]. Спустя 72 ч после моделирования транзиторной ишемии, животные были декапитированы с последующим извлечением головного мозга для морфологической оценки выживаемости нейронов в CA1 регионе гиппокампа. Использовали световой микроскоп Микмед 6, вар.7 (ЛОМО, Россия).

После декапитации и извлечения мозга из последнего секционировался участок больших полушарий между 2,5-8,5 мм от края затылочных долей и проводилась гистологическая обработка с окраской по Нисслю. Далее исследовался участок гиппокампа в промежутке между 4,8-5,8 мм interaural – 3.3 – 3.4 мм, от Bregma во фронтальном разрезе (что соответствует участку больших полушарий мозга на расстоянии 5,5 мм от края затылочных долей). В окрашенных по Нисслю препаратах выполнялся подсчет поврежденных и сохранившихся клеток в CA1 регионе гиппокампа [13].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с применением пакетов программ

«StatPlus 2010 10.0.1011.0» (AnalystSoft Inc., США). Количественные данные при несоответствии закону нормального распределения представлены в виде медианы (Me), нижнего квартиля (25%) и верхнего квартиля (75%), максимального и минимального значений. Для оценки распределения показателей на соответствие закону нормального распределения использовался критерий Колмогорова-Смирнова. В случаях несоблюдения условий нормальности распределения использовались методы непараметрической статистики. Сравнения трех или более групп осуществлялось с использованием критерия Крускала-Уоллиса с последующими множественными сравнениями. Различия принимали как статистически значимые при вероятности ошибки $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ эффективности защиты при комбинировании гиперкапнически-гипоксических воздействий и фармакологических препаратов разных нейропротекторных групп показал, что потенцирующим эффектом обладает комбинация с ингибитором АПФ (эналаприлом) (рисунки). Применение эналаприла усиливало нейропротекторный эффект гиперкапнической гипоксии, вероятно, вследствие его дополнительных антигипоксических и антиишемических свойств, которые реализуются посредством независимых от воздействия гиперкапнической гипоксии путей [7, 14]. Применение АТФ и даларгина не показало значимого прироста нейропротекторной эффективности гиперкапнической гипоксии.

Важно отметить, что сочетание блокатора карбоангидразы ацетазоламида с воздействиями гиперкапнической гипоксии полностью устраняло нейропротекторный эффект респираторных тренировок, что может быть связано с избыточным внутриклеточным ацидозом, вызванным накоплением CO_2 после введения ацетазоламида [15]. Следовательно, фармакологическое потенцирование накопления CO_2 в организме на фоне гиперкапнической гипоксии не эффективно и даже снижает нейропротекторный эффект респираторных воздействий.

Таким образом, фармакологическое потенцирование может значимо повышать нейропротекторную эффективность респираторных тренировок с интермиттирующей гиперкапнической гипоксией. Комбинация с фармакологическими препаратами, модулирующими сигнальные пути, не вовлеченные в механизм формирования ишемической толерантности при респираторных воздействиях, является перспективной стратегией повышения нейропротекторной эффективности

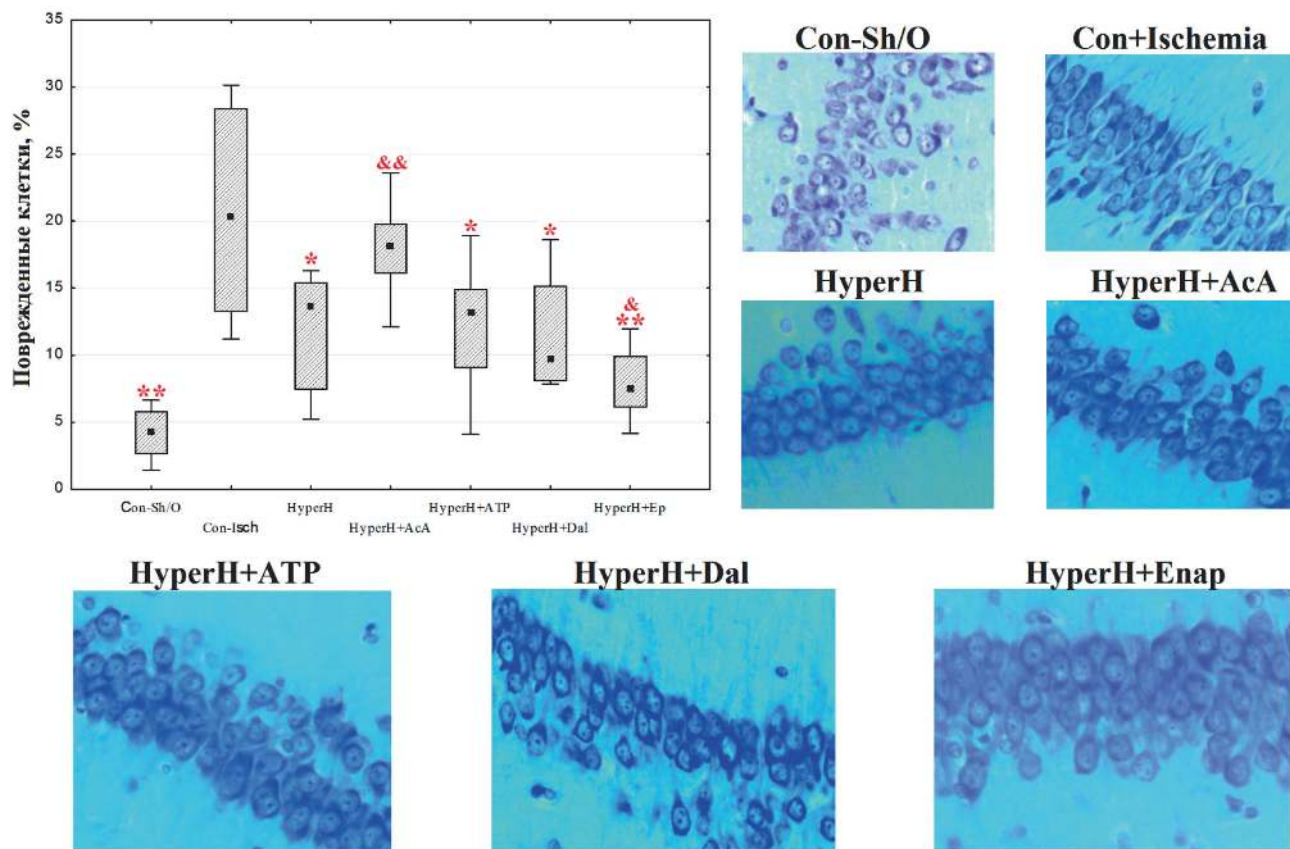


Рисунок. Содержание нейронов с ишемическим повреждением в CA1 регионе гиппокампа после транзиторной ишемии. * $p < 0,05$ – различия по сравнению с группой Con+Ischemia. ** $p < 0,001$ – различия по сравнению с группой Con+Ischemia; & $p < 0,05$ – различия по сравнению с группой HyperH; && $p < 0,01$ – различия по сравнению с группой HyperH. Con-Sh/O = ложно-оперированный контроль; Con-Ischemia = контрольная группа с ишемией; HyperH = гиперкапническая гипоксия; HyperH+AcA = гиперкапническая гипоксия + ацетазоламид; HyperH+ATP = гиперкапническая гипоксия + АТФ-динатриевая соль; HyperH+Dal = гиперкапническая гипоксия + даларгин; HyperH+Enap = гиперкапническая гипоксия + эналаприл.

Figure. Content of neurons with ischemic damage in the hippocampal CA1 region after transient ischemic. * $p < 0,05$, significant differences from the Con+Ischemia group; ** $p < 0,001$, significant differences from the Con+Ischemia group; & $p < 0,05$, significant differences from the HyperH group; && $p < 0,01$, significant differences from the HyperH group. Con-Sh/O, sham-operated control; Con-Ischemia, control group with ischemia; HyperH, hypercapnic hypoxia; HyperH+AcA, hypercapnic hypoxia + acetazolamide; HyperH+ATP, hypercapnic hypoxia + ATP disodium salt; HyperH+Dal, hypercapnic hypoxia + dalargin; HyperH+Enap, hypercapnic hypoxia + enalapril.

гиперкапнической гипоксии. Выраженным потенцирующим эффектом на нейропротекцию, обусловленную респираторными тренировками с гиперкапнической гипоксией, обладает ее комбинация с ингибитором АПФ (эналаприлом).

Литература

(п.п. 1-4; 6-8; 10; 12; 13; 15 см. References)

- Трегуб П.П., Куликов В.П., Малиновская Н.А., Механизмы нейропротекторного эффекта сочетанного воздействия гипоксии и гиперкапнии. *Сибирское медицинское обозрение*. 2018; 3: 5-13. <https://doi.org/10.20333/2500136-2018-3-5-13>
- Гацура С.В., Зинчук В.В. Влияние эналаприла малеата и лозартана на размеры экспериментального инфаркта миокарда, сродство гемоглобина к кислороду и некоторые показатели перекисного окисления липидов. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2004; 1:19-21.
- Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Райс К. Проницаемость гематоэнцефалического барьера для лигандов опиоидных рецепторов. *Экспериментальная и клиническая кардиология*. 2002; 65(4): 71-7.
- Сафронова Е.С., Юнцев С.В., Белозерцев Ю.А. Нейропротекторное и мнотропное действие ингибиторов АПФ при травматическом диффузном аксональном повреждении мозга. *Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация*. 2013; 12: 160-6.

References

1. Yang C.C., Lin L.C., Wu M.S., Chien C.T., Lai M.K. Repetitive hypoxic preconditioning attenuates renal ischemia/reperfusion induced oxidative injury via upregulating HIF-1 alpha-dependent bcl-2 signaling. *Transplantation*. 2009; 88: 1251-60.
2. Lukyanova L.D., Germanova E.L., Kopaladze R.A. Development of resistance of an organism under various conditions of hypoxic preconditioning: role of the hypoxic period and reoxygenation. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2009; 147: 400-4.
3. Glazychev O.S. Optimization of clinical application of interval hypoxic training. *Med Tekh.* 2013; 3: 21-4.
4. Tregub P., Kulikov V., Motin Y., Bespalov 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.
5. Tregub P.P., Kulikov V.P., Malinovskaya N.A., Mechanisms of the neuroprotective effect of the combined effects of hypoxia and hypercapnia. *Sibirskoye meditsinskoye obozreniye*. 2018; 3:5-13. (in Russian) <https://doi.org/10.20333/2500136-2018-3-5-13>
6. Bejaoui M., Pantazi E., De Luca V., Panisello A., Folch-Puy E., Serafin A., Capasso C., C T. S., Rosselló-Catafau J. Acetazolamide protects steatotic liver grafts against cold ischemia reperfusion injury. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2015; 355(2): 191-8.
7. Obrenovitch T.P. Molecular Physiology of Preconditioning-Induced Brain Tolerance to Ischemia. *Physiol Rev.* 2008; 88: 211-47.
8. Lassoukova T.V., Maslov L.N. Opioid receptors and resistance of the heart to pathogenetic influences. *CurrDrug Targets.* 2012; 13(2): 230-46.
9. Gatsura S.V., Zinchuk V.V. Effect of enalapril maleate and losartan on the size of experimental myocardial infarction, the affinity of hemoglobin for oxygen and some indicators of lipid peroxidation. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya.* 2004; 1: 19-21. (in Russian)
10. Ertan C., Atar I., Gulmez O., Atar A., Ozgul A., Aydinalp A., et al. Adenosine-induced ventricular arrhythmias in patients with supraventricular tachycardias. *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* 2008; 13(4): 386-90.
11. Lishmanov Yu.B., Maslov L.N., Rice K. Permeability of the blood-brain barrier for ligands of opioid receptors. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya.* 2002; 65(4): 71-7. (in Russian)
12. Sharifi Z.N., Abolhassani F., Zarrindast M.R., Movassaghi S., Rahimian N., Hassanzadeh G. Effects of FK506 on Hippocampal CA1 Cells Following Transient Global Ischemia/Reperfusion in Wistar Rat. *Stroke Res. Treat.* 2012:809417.
13. Zhan L., Wang T., Li W., Xu Z.C., Sun W., Xu E. Activation of Akt/FoxO signaling pathway contributes to induction of neuroprotection against transient global cerebral ischemia by hypoxic pre-conditioning in adult rats. *J. Neurochem.* 2010; 114(3): 897-908.
14. Safronova E.S., Yuntsev S.V., Belozertsev Yu.A. Neuroprotective and mnemotropic action of ACE inhibitors in traumatic diffuse axonal brain injury. *Vestnik Buryatskogo gosudartvennogo universiteta. Meditsina i farmatsiya.* 2013; 12: 160-6. (in Russian)
15. Xu J., Peng Z., Li R., Dou T., Xu W., Gu G., et al. Normoxic induction of cerebral HIF-1by acetazolamide in rats: Role of acidosis. *Neurosci. Lett.* 2009. 451: 274-8.

Сведения об авторах:

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

Каланова Любовь Александровна, преподаватель ООО «Алтайский медицинский институт последипломного образования», e-mail: nsp.brn@gmail.com;

Трегуб Павел Павлович, канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. экспериментальной нейрцитологии ФГБНУ «Научный центр неврологии», e-mail: pfiza_asmu@mail.ru

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616.12-008.331.1-085.225.2-07

Покровский В.М., Елисеева Л.Н., Самородская Н.А.

Иерархическая организация системы регуляции артериального давления в организме человека

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, 350063, г. Краснодар, Россия, ул. Митрофана Седина, д. 4

Цель исследования – создание на основе анализа нарушений механизмов системы регуляции артериального давления (АД) нового методологического подхода в определении эффективности антигипертензивной терапии у пациентов с гипертонической болезнью.

Методика. В исследование включены данные 277 пациентов (136 мужчин, 141 женщина) с гипертонической болезнью II стадии 1-2 степени, риск II, III. Возраст пациентов $58,6 \pm 6,4$ лет, давность заболевания $7,2 \pm 1,4$ лет. В группу контроля вошли 57 практически здоровых лиц (25 женщин, 32 мужчины) в возрасте $52,1 \pm 4,4$ года. После скрининга и получения письменного информированного согласия в виде монотерапии назначены: небиволол, лизиноприл, лозартан, индапамид, амлодипин, и нефиксированная комбинация лизиноприла и индапамида. Изучены изменения показателей АД на выделенных уровнях системы регуляции АД после 6 мес терапии.

Результаты. Оценка эффективности применяемой терапии показала, что при стабилизации артериального давления у пациентов всех 6 групп на должном уровне существенные различия выявлены на интегративном уровне регуляции. При применении амлодипина, лозартана, лизиноприла, а также комбинации лизиноприла и индапамида регуляторно-адаптивные возможности организма улучшились, при лечении индапамидом – не изменились, при применении небиволола снизились. Предложена оригинальная классификация уровней регуляции (контроля) артериального давления у человека, основанная на общебиологическом принципе иерархической организации регуляции вегетативных функций. Выделены уровни: интегративный, вегетативного обеспечения (осуществляемый автономной нервной системой), органный, периферический (эндотелиально-микроциркуляторный).

Заключение. Количественная оценка на интегративном уровне является универсальным показателем эффективности лечения, что открывает возможность создания методологического подхода, основанного на оценке влияния терапевтических воздействий не только на орган- или функцию-мишень, но и на состояние организма как целостной системы.

Ключевые слова: гипертоническая болезнь; уровни регуляции артериального давления; эффективность терапии

Для цитирования: Покровский В.М., Елисеева Л.Н., Самородская Н.А. Иерархическая организация системы регуляции артериального давления в организме человека. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(3): 26-33.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.26-33

Участие авторов: руководство по проведению исследований, редактирование статьи – Покровский В.М.; общее консультативное руководство – Елисеева Л.Н.; сбор материала, создание банка клинических данных, написание статьи и статистическая обработка результатов исследования – Самородская Н.А. Утверждение окончательного варианта статьи – все авторы.

Для корреспонденции: Самородская Наталья Анатольевна, e-mail: docsam@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 09.06.2020

Принята к печати 30.06.2021

Опубликована 30.09.2021

Pokrovsky V.M., Eliseeva L.N., Samorodskaya N.A.

Hierarchical organization of the blood pressure regulation system in the human body

Kuban State Medical University,
Mitrofana Sedina St. 4, Krasnodar 350063, Russian Federation

Aim. To create a new methodological approach for determining the effectiveness of antihypertensive therapy in patients with arterial hypertension based on the analysis of violation of mechanisms in the blood pressure (BP) regulation system.

Methods. This study included 277 patients (136 males, 141 females) with stage II, grade 1-2 hypertension, risk II, III, aged 58.6 ± 6.4 yrs, with disease duration 7.2 ± 1.4 yrs. The control group included 57 essentially healthy individuals (25 females, 32 males) aged

52.1±4.4 yrs. After screening and obtaining written informed consent, the following monotherapy was prescribed: nebivolol, lisinopril, losartan, indapamide, and amlodipine, plus an unfixed combination of lisinopril and indapamide. Changes in BP indexes at the predetermined levels of the BP regulation system were studied after 6 mos. of treatment.

Results. Evaluation of the therapy effectiveness showed that, when BP was stabilized in all six groups at proper values, significant differences were revealed at the integrative regulatory level. When patients were treated with amlodipine, losartan, lisinopril, as well as a combination of lisinopril and indapamide, the regulatory and adaptive capabilities of the body improved. When treated with indapamide, these capabilities were unchanged, and when treated with nebivolol, these capabilities decreased. A new classification of the regulatory levels of BP control in humans is proposed. This classification is based on the general biological principle of hierarchical organization for the regulation of autonomic functions. The following levels are distinguished: integrative, autonomic support, i.e., carried out by the autonomic nervous system, organ, and peripheral, i.e., endothelial-microcirculatory.

Conclusion. Quantitative assessment at the integrative level is a universal indicator of the treatment effectiveness. It makes it possible to create a methodological approach to determine possible effectiveness of treatment based on the assessed impact not only on the target organ or function, but also on the status of the body as a whole system.

Keywords: hypertension; effectiveness of therapy; blood pressure regulation system; regulatory levels of blood pressure

For citation: Pokrovsky V.M., Eliseeva L.N., Samorodskaya N.A. Hierarchical organization of the blood pressure regulation system in the human body. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(3): 26-33. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.26-33

Contribution: study director, editing of the manuscript – Pokrovsky V.M.; general advisory guidance – Eliseeva L.N.; material collection, creation of a clinical data bank, article writing and statistical processing of research results – Samorodskaya N.A. Approval of the final version of the article – all co-authors.

For correspondence: *Natalia A. Samorodskaya*, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Faculty Therapy, Krasnodar, e-mail: docsam@mail.ru

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

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

Information about the authors:

Pokrovsky V.M., <https://orcid.org/0000-0002-3971-7848>

Eliseeva L.N., <https://orcid.org/0000-0002-5275-3261>

Samorodskaya N.A., <https://orcid.org/0000-0002-9723-1176>

Received: 09.06.2020

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

Введение

Ранее накопленные данные о механизмах регуляции артериального давления (АД) в организме человека позволили сформировать представления о системе поддержания (или стабилизации) АД [1]. Вместе с тем, стройной концептуальной позиции в отношении соподчиненности и интеграции механизмов регуляции АД как целостной системы в настоящее время не существует. Нам представляется, что создание такой системы оценки регуляции АД от интегративного уровня до периферического (эндотелиально-микроциркуляторного) позволит разработать новые методологические подходы к пониманию патогенеза и совершенствованию лечения гипертонической болезни (ГБ). В данное время успешно развиваются представления о местных гуморальных механизмах регуляции АД, и успехи на этом пути весьма существенны [2]. В поддержании величины АД известна и достаточно хорошо освещена роль почек и сердца [3, 4]. Рассматривается роль тонуса отделов вегетативной нервной системы

в формировании АД [5, 6]. В последние годы интенсивно изучается вопрос о роли генетического компонента в регуляции АД [7, 8]. В то же время мало изученным, практически не имеющим исследований остается интегративный уровень регуляции, соединяющий в целостную систему приведенные уровни, координирующий направленность и состояние деятельности вегетативных (автономных), органных и периферических механизмов регуляции. Причина, по-видимому, связана с отсутствием методических подходов, обеспечивающих количественную оценку состояния интегративного уровня регуляции при артериальной гипертензии (АГ) [9]. Этот подход декларирован в исследовании [10], в котором показана обратная зависимость между степенью АГ и уровнем регуляторно-адаптивного статуса (РАС), определяемом методом сердечно-дыхательного синхронизма (СДС). При этом в комплексе с другими уровнями регуляции АД интегративный уровень еще не рассматривался. В представленной рабо-

те проведена одновременная комплексная оценка нарушений на 4 основных уровнях регуляции АД, включая интегративный, при ГБ.

Цель – создание на основе анализа нарушений механизмов системы регуляции артериального давления нового методологического подхода в определении эффективности антигипертензивной терапии у пациентов с гипертонической болезнью.

Методика

1. Определение нарушений механизмов системы регуляции АД на периферическом (эндотелиально-микроциркуляторном) уровне. 1) параметры микроциркуляции регистрировали на аппарате ЛАКК-01 (НПП «ЛАЗМА», Россия), с использованием стандартной методики. При окклюзионной пробе на основании соотношения среднего показателя микроциркуляции (ПМ) в покое и резерва капиллярного кровотока (РКК) определены типы микроциркуляторного русла: спастический (СПТ) (РКК > 300%, ПМ < 4,5 перфузионных единиц (перф. ед.)), нормоциркуляторный (НЦТ) (РКК 200–300%, ПМ 4–6 перф. ед.), стазический (СтЗТ) (РКК < 200%, ПМ < 4,5 перф. ед.), гиперемический (ГПТ) (РКК < 200%, ПМ > 6 перф. ед.), застойный (ЗСТ) (РКК < 200%, ПМ < 4,5 перф. ед.); 2) для определения активности симпатoadренальной системы использована оценка бета-адренорецепции клеточных мембран эритроцитов (β -АРМ) [11]; 3) определялись факторы некроза опухоли- α (ФНО- α), интерлейкин-10 (ИЛ-10), рассчитывали коэффициент ФНО- α /ИЛ-10.

2. Определение нарушений механизмов системы регуляции АД на органном уровне. 1) для исследования функционального и структурного состояния миокарда проводилась ЭхоКГ на ультразвуковом аппарате SIEMENS S 2000 (Германия) датчик 3,5-5 МГц с использованием стандартной методики; 2) исследования почечного кровотока проводили на ультразвуковом аппарате SIEMENS S 2000 (Германия) с использованием режима триплексного сканирования конвексным датчиком 2,5-5 МГц; 3) для суточного мониторирования АД и электрокардиограммы (ЭКГ) использовали комбинированный регистратор «Кардиотехника-07-АД-3» (Россия).

3. Определение нарушений механизмов системы регуляции АД на уровне вегетативного обеспечения (осуществляемого автономной нервной системой). На приборе «ВНС-Микро» (ООО «Нейрософт», Россия) по 5-минутной записи ЭКГ исследовали стандартные показатели variability сердечного ритма (ВСР) [12, 13]. В зависимости от значений индекса вагосимпатического взаимодействия (ИВСВ = LF/HF) выделены типы

вегетативной регуляции: симпатикотонический (Ст) (1,05 < ИВСВ), парасимпатический (Пс) (ИВСВ < 0,95) и смешанный (См) (0,95 < ИВСВ < 1,05).

4. Определение нарушений механизмов системы регуляции АД на уровне интегративного обеспечения. Был использован анализ РАС методом СДС на приборе «ВНС-Микро» (ООО «Нейрософт», Россия) с вычислением индекса РАС (ИРАС) по формуле [14]:

$$\text{ИРАС} = \frac{\text{диапазон синхронизации}}{\text{длительность развития синхронизации на минимальной границе диапазона} \times 100}$$

В зависимости от величины ИРАС выделяли: низкий уровень РАС (ИРАС < 30), средний уровень РАС (ИРАС от 31 до 59), высокий уровень РАС (ИРАС > 60), что сделало возможным объективно-количественную оценку регуляторно-адаптивных изменений организма [10, 14].

Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2004) и письменного добровольного информированного согласия всех пациентов. Соответствие выполненного исследования этическим принципам было подтверждено комитетом по этике ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», протокол № 47 от 20.01.2017 г.

В исследование включено 277 больных ГБ II стадии, 1-2 степени, риск II, III (136 мужчин, 141 женщина) с давностью заболевания 7,2 ± 1,4, в возрасте 58,6 ± 6,4 лет, (женщины, были без признаков менопаузального состояния). Статус пациентов с индексом массы тела (ИМТ) > 30 соответствовал стадии «ожирение» по классификации ВОЗ. Диагноз ГБ был верифицирован в соответствии с классификацией ВОЗ/МОАГ в модификации РКО 2019 г. В группу контроля вошли 57 практически здоровых лиц (25 женщин, 32 мужчины) в возрасте 52,1 ± 4,4 года, полученные эмпирические данные которых использованы в качестве нормальных значений

После скрининга пациентам с ГБ II стадии, степень 2, риск II, были назначены в виде монотерапии препараты: небиволол в дозе 7,2 ± 2,8 мг/сут (Небилет, Берлин Хеми) 51 пациенту; индапамид в дозе 1,5 мг/сут (Арифон-ретард, Сервье) – 45 пациентам; лизиноприл в дозе 15,9 ± 4,1 мг/сут (Диротон, Гедеон Рихтер) – 50 пациентам; лозартан в дозе 84,5 ± 15,5 мг/сут (Лориста КРКА, Словения) – 30 пациентам; амлодипин в дозе 8,5 ± 1,4 мг/сут (Нормодипин, Гедеон Рихтер) – 44 пациентам. Комбинация (нефиксированная) лизиноприла и индапамида в дозе 8,1 ± 1,9/1,5 мг/сут назначена 57 пациентам с ГБ II стадии, степень 2, ри-

ском риск III. Исследования указанными методами проводили исходно и через 1, 3 и 6 мес от начала терапии (в статье приводятся результаты 6-месячного лечения). Критерии исключения: пациенты с заболеваниями, влияющие на сосудистые и общерегуляторные показатели, пациенты, принимающие психотропные препараты, страдающие непереносимостью препаратов, а также находящиеся на систематической антигипертензивной терапии (АГТ). Данные пациентов не достигших целевых значений АД в течение 3 мес наблюдения, из исследования исключались.

Статистическую обработку данных проводили методами вариационной статистики с использованием параметрических методов. Данные представлены в виде $M \pm SD$. Для оценки статистически значимых различий между независимыми группами использовался критерий Стьюдента с поправкой Бонферонни. Определяли значения среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (SD). Для определения значимости межгрупповых различий применяли критерий t Стьюдента с поправкой Бонферонни и критерий Манна-Уитни; для сравнения парных (сопряженных) выборок использовали критерий Вилкоксона. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Для оценки связи между признаками использовался корреляционный анализ (коэффициент корреляции r Спирмена). При $r \leq 0,25$ корреляцию считали слабой, $0,25 < r \leq 0,75$ – умеренной, при $r \geq 0,75$ корреляция оценивалась как сильная. Статистическую обработку полученных данных выполняли на персональном компьютере «Intel Celeron-1800» с использованием пакета статистических программ («Statistica 6.0») с помощью программы «STATISTICA 6.0» («Statsoft Inc.», США).

Результаты и обсуждение

Нарушение механизмов системы регуляции артериального давления на периферическом уровне и их коррекция под влиянием антигипертензивной терапии. При оценке периферического уровня регуляции АД методом ЛДФ у обследуемых с ГБ до лечения выявлены следующие типы состояния микроциркуляции: НЦТ (у 42,3%), СПТ (у 34,4%), СтЗТ (у 23,3%).

Таким образом, нарушения механизмов системы регуляции АД на периферическом уровне у 57,7% лиц с ГБ были представлены патологическими типами МЦ. Исходно в сравнении с группой контроля выявлено: снижение ПМ на 14,4%, коэффициента вариации (K_v) на 54,3%, среднеквадратического отклонения на 60,2% миогенной активности (МА) на 69,7% и увеличение эндотелиальной активности ($A\alpha/3\sigma$) в 16,6 раза и нейрогенного тонуса (НТ) на 16,1%. У пациентов включен-

ных в исследование отмечено превышение концентрации ФНО- α на 17,1% и интерлейкина-10 на 21,3% в сравнении с практически здоровыми лицами, что отражает иммунный компонент патогенеза заболевания [15] и статистически значимое их снижение к 6-му мес терапии нефиксированной комбинацией лизиноприла и индапамида – на 11,6% и на 5% соответственно (табл. 1). Через 6 мес с начала терапии увеличилась доля лиц с НЦТ и СПТ и уменьшилась – со СтЗТ типами микроциркуляции (табл. 1, 2).

Прием небиволола, индапамида, амлодипина, лозартана и комбинации лизиноприла с индапамидом выявил значимое увеличение σ на 9, 8, 10, 12, и на 18% соответственно). Увеличение K_v составило при этом 10, 7, 9, 11 и 15% соответственно). Эти данные отражают улучшение состояния МЦ, поскольку они связаны с повышением σ в результате более эффективной работы активных механизмов регуляции тканевого кровотока при практически не изменяющейся величине среднего арифметического значения ПМ (табл. 1, 2). При лечении лизиноприлом и лозартаном существенно снижались НТ и МА (табл. 1, 2). К увеличению исходно сниженной МА приводило только применение небиволола и комбинированная терапия (МА повысилась 2,2 раза и 0,5 раза соответственно). Отмечено значимое снижение показателя $A\alpha/3\sigma$ у пациентов принимающих небиволол, индапамид, амлодипин и комбинированную терапию (табл. 1, 2).

Нарушение механизмов системы регуляции артериального давления на органном уровне и их коррекция под влиянием антигипертензивной терапии. У обследуемых лиц с ГБ выявлены следующие типы ремоделирования миокарда левого желудочка: концентрическая гипертрофия (у 86% обследуемых), концентрическое ремоделирование (у 14%). На фоне стабилизации и достижения целевого уровня АД монотерапия через 6 мес приводила к улучшению структурного и функционального состояния миокарда в той или иной степени выраженности, но статистически значимые изменения отмечены только при использовании комбинированной терапии (табл. 2). Наблюдалось снижение индекса массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ) на 7,4%, увеличение соотношения пикового кровотока в период раннего наполнения левого желудочка и систолы левого предсердия (Е/А) – на 12,8% [16]. На фоне проводимой антигипертензивной терапии (АГТ) по данным СМАД выявлено уменьшение индекса нагрузки временем систолического (САД) и диастолического (ДАД) давления в ночное и дневное время, увеличилось количество пациентов с профилем «dipper» (на 14,6%), уменьшилось «non dipper» (на 35%) и полностью ис-

чезли «night picker». Сравнительный анализ изменений почечного кровотока не выявил статистически значимых изменений на фоне АГТ через 6 мес.

Нарушение механизмов системы регуляции артериального давления на уровне вегетативного обеспечения (осуществляемого автономной нервной системой) и их коррекция под влиянием антигипертензивной терапии. У пациентов, включенных в исследование по результатам ВСР, определены типы вегетативной регуляции: Ст – 49,1%, Пс – 22,4%, См – 28,5%. По срав-

нению с группой практически здоровых лиц выявлено уменьшение мощности волн высокой частоты (HF) в 2,1 раза, общей мощности спектра (TP) – на 34,2%) и увеличение индекса централизации (ИЦ) в 3,0 раза, а мощности волн очень низкой частоты (%VLF) – в 2,4 раза. Исходно β-АРМ была увеличена у всех лиц с ГБ в сравнении с контрольной группой в 6,8 раза. При лечении небивололом отмечено увеличение: стандартного отклонения полного массива кардиоинтервалов (SDNN) на 39,5%, коэффициента вариации пол-

Таблица 1/Table 1

Оценка эффективности лечения гипертонической болезни на уровнях регуляции артериального давления, применяемыми в комбинированной терапии

Evaluation of the effectiveness of arterial hypertension treatment at the levels of blood pressure regulation with drugs used in combination treatment; integration of blood pressure regulation levels

Уровень регуляции АД	Показатели	Контрольная группа (n=57) M±SD	Препараты, применяемые в комбинированной терапии					
			Лизиноприл (n=50), M±SD		Индапамид (n=45), M±SD		Лизиноприл+индапамид (n=55), M±SD	
			исходно	6 мес.	исходно	6 мес.	исходно	6 мес.
Периферический	ПМ, перф.ед.	4,52±0,81	4,02±0,3	4,0±0,5	3,67±0,6	3,85±0,5	3,53±0,4	4,1±0,6 [^]
	σ, перф.ед.	0,71±0,42	0,25±0,01	0,3±0,06	0,32±0,01	0,46±0,02 [^]	0,28±0,01	0,71±0,04 [^]
	Kv %	16,51±7,3	6,2±0,9	7,5±0,7	8,7±0,03	11,9±0,5 [^]	7,9±0,7	17,3±2,6 [^]
	НТ	0,71±0,2	0,7±0,02	0,48±0,02[^]	0,73±0,03	0,71±0,02	0,68±0,02	0,68±0,04
	МТ	24,4±1,2	8,5±1,1	6,8±0,7[^]	6,13±0,6	6,3±0,7	6,8±0,8	14,8±1,6 [^]
	ЭЗКТ	0,45±0,04	6,1±0,8	6,2±0,6	8,9±1,3	3,7±0,5^{^^}	8,9±1,4	3,7±0,6[^]
	ФНО-α, пг/мл	15,9±6,8	18,5±6,4	17,8±4,3	18,0±6,5	17,1±5,3	19,0±8,3	16,8±5,4 [^]
	ИЛ-10, пг/мл	40,8±21,8	42,7±19,0	41,3±22,4	43,0±21,2	42,1±18,2	42,2±0,07	40,1±0,1[^]
Органый	ФНО-α /ИЛ-10	0,37±0,3	0,43±0,3	0,41±0,1	0,40±0,5	0,39±0,4	0,45±0,2	0,41±0,1[^]
	ИММЛЖ, г/м ²	79,2±8,9	121,8±12,4	119,7±11,2	120,3±18,2	118,1±13,2	126,9±10,6	118,1±12,3[^]
	Е/А ед.	0,97±0,03	0,78±0,002	0,81±0,05	0,82±0,001	0,84±0,02	0,78±0,002	0,88,0±0,05 [^]
Вегетативного обеспечения	SDNN, мс	34,1±3,3	34,9±3,6	43,2±3,1[^]	34,8±2,6	35,3±2,9	34,8±3,2	50,1±13,2[^]
	CV, %	4,0±0,4	4,2±0,1	4,6±0,1	3,95±0,02	4,5±0,04	3,96±0,04	5,7±0,01[^]
	TP, мс ²	2678,5±21,8	3103,4±48,0	2746,3±32,2[^]	1743,5±35,2	2326±36,4[^]	1744,7±15,2	2619,7±26,4[^]
	LF/HF	0,54±0,06	1,2±0,1	0,98±0,01	1,9±0,05	2,3±0,05[^]	1,9±0,04	0,98±0,04
	ИЦ	0,86±0,09	2,2±0,03	1,7±0,01	4,5±0,02	6,1±0,4[^]	4,5±0,04	1,7±0,04[^]
	β-АРМ, усл. ед.	7,6±0,8	47,5±0,3	21,5±0,4^{^^}	54,2±0,2	71,6±0,6[^]	54,1±4,0	23,2±0,5[^]
Интегративный	iPAC	75,2±3,4	36,4±0,6	47,4±3,4[^]	39,1±1,5	37,1±1,6	29,4±1,2	41,3±2,2[^]

Примечание: ПМ – показатель микроциркуляции; σ – среднее квадратическое отклонение ПМ; Kv – коэффициент вариации; НТ – нейрогенный тонус стенки микрососудов; МТ – миогенный тонус; ЭЗКТ – эндотелиальная активность (эндотелиально-зависимый компонент тонуса); ФНО-α – фактор некроза опухоли альфа; ИЛ-10 – интерлейкин-10; ЧСС – частота сердечных сокращений; ИММЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка; Е/А – соотношение пикового кровотока в период раннего наполнения левого желудочка и систолы левого предсердия; SDNN – среднее квадратическое отклонение; CV – коэффициент вариации; TP – общая мощность спектра; LF – мощность волн низкой частоты; HF – мощность волн высокой частоты; LF/HF – индекс вагосимпатического взаимодействия; ИЦ – индекс централизации; β-АРМ – β-адренорецепция клеточных мембран эритроцитов; iPAC – индекс регуляторно-адаптивного статуса; [^], ^{^^} – достоверные изменения (выделены жирным шрифтом) при сравнении до и после лечения, p < 0,01; < 0,001 соответственно.

Notes: MI – microcirculation index; σ – standard deviation for MI; Kv – coefficient of variation; NT – neurogenic microvascular tone; MT – myogenic tone; EDCI – endothelial activity (endothelium-dependent component of vascular tone); TNF-α – tumor necrosis factor α; IL-10 – interleukin-10; HR – heart rate; LVMMI – left ventricular myocardial mass index; E/A – ratio of peak blood flow during early left ventricular filling to peak blood flow during left atrial systole; NN – standard deviation; CV, – coefficient of variation; TP – total power of spectrum; LF – low frequency wave power; HF – high frequency wave power; LF/HF – vagosympathetic interaction index; CI – centralization index; β-ARM – β-adrenoceptors of red blood cell membranes; iRAS – index of regulatory adaptive status; [^], ^{^^} – significant differences (bold print) between before and after treatment, p < 0.01; < 0.001, respectively.

ного массива кардиоинтервалов (CV) на 39,2%, TP на 50,2%. При этом снижались: индекс вагосимпатического взаимодействия (LF/HF) на 48,3%, ИЦ на 64,4%, β-АРМ на 37,2%, что свидетельствует об уменьшении активности симпатических влияний. В результате терапии лизиноприлом SDNN увеличилось на 23,8%, а TP и β-АРМ уменьшились на 11,5% и на 54,7% соответственно. При этом LF/HF значимо не изменился. При лечении индапамидом и амлодипином было зарегистрировано увеличение ИЦ на 35,6 и 35,7% соответственно, TP – на 33,2% и 34,1%, β-АРМ – на 32,2%

и 22,4%, а LF/HF – на 21,0% и на 22,3%, что отражает усиление симпатической активности (табл. 1, 2). При использовании лозартана SDNN увеличилось на 24,9%, LF/HF статистически значимо не изменился, но наблюдалось снижение β-АРМ на 38,5%. В группе комбинированной терапии отмечено увеличение SDNN на 44%, CV на 43,9%, TP (на 50,1%) и снижение ИЦ на 62%. При этом показатель LF/HF значимо не изменился, но β-АРМ снизилась на 57,1%. Таким образом, снижение активности симпатических влияний отмечено у лиц, принимавших небиволол, лизи-

Таблица 2/ Table 2

Оценка эффективности лечения гипертонической болезни на уровнях регуляции артериального давления препаратами, применяемыми в монотерапии

Evaluation of the effectiveness of arterial hypertension treatment at the levels of blood pressure regulation with drugs used in monotherapy

Уровень регуляции АД	Показатели	Контрольная группа (n=57) M±SD	Препараты, применяемые в монотерапии					
			Амлодипин (n=44), M±SD		Лозартан (n=30), M±SD		Небиволол (n=51), M±SD	
			исходно	6 мес.	исходно	6 мес.	исходно	6 мес.
Периферический	ПМ, перф.ед.	4,52±0,81	3,64±0,3	3,82±0,2	4,05±0,7	4,1±0,2	3,9±0,6	3,6±0,4
	σ, перф.ед.	0,71±0,42	0,30±0,04	0,45±0,03^	0,24±0,05	0,32±0,04^	0,34±0,02	0,46±0,01^
	Kv %	16,51±7,3	8,2±0,02	11,8±0,3^	5,9±0,6	7,8±0,9^	8,7±0,06	12,8±0,02^
	HT	0,71±0,2	0,72±0,01	0,70±0,04	0,71±0,02	0,49±0,05^	0,68±0,01	0,63±0,008
	MT	24,4±1,2	6,15±0,4	6,6±0,8	8,3±1,2	6,5±0,4^	7,9±0,8	12,2±0,8^
	ЭЗКТ	0,45±0,04	8,7±1,2	3,8±0,4^	6,0±0,4	6,1±0,3	7,6±0,5	4,6±0,5^
	ФНО-α, пг/мл	15,9±6,8	16,9±3,2	15,9±4,0	18,2±5,3	17,4±6,3	17,2±4,1	16,0±5,2
ИЛ-10, пг/мл	40,8±21,8	42,8±17,8	41,4±16,9	43,4±20,1	42,1±22,4	42,1±19,4	41,3±20,5	
ФНО-α /ИЛ-10	0,37±0,3	0,42±0,3	0,41±0,7	0,39±0,8	0,38±0,6	0,41±0,5	0,40±0,2	
Органный	ИММЛЖ, г/м²	79,2±8,9	122,3±18,0	119,0±11,2	118,9±11,2	116,0±11,2	123,4±7,1	121,0±8,6
	Е/А ед.	0,97±0,03	0,76±0,005	0,79±0,07	0,80±0,04	0,83±0,03	0,78±0,02	0,81±0,01
Вегетативного обеспечения	SDNN, мс	34,1±3,3	34,6±2,1	34,2±2,2	34,2±3,1	42,7±3,0^	32,4±3,0	45,2±1,8^
	CV, %	4,0±0,4	4,1±0,05	4,3±0,07	4,1±0,1	4,7±0,1	3,95±0,07	5,5±0,02^
	TP, мс²	2678,5±21,8	1739,6±31,8	2330,4±31,8^	3101,2±42,3	2740,5±30,8	1743,5±1,9	2618,8±9,6^
	LF/HF	0,54±0,06	1,8±0,05	2,2±0,05^	1,2±0,1	0,97±0,01	1,8±0,5	0,93±0,05^
	ИЦ	0,86±0,09	4,2±0,02	5,7±0,4^	2,2±0,03	1,5±0,01	4,5±0,04	1,6±0,04^
	β-АРМ, усл. ед.	7,6±0,8	52,6±0,3	64,5±0,1^	50,7±0,8	31,2±0,5^	51,9±4,2	32,6±0,1^
Интегративный	иРАС	75,2±3,4	36,8±1,4	51,7±2,2^	35,4±0,4	47,9±2,3^	37,1±1,6	32,1±2,1^

Примечание: ПМ – показатель микроциркуляции; σ – среднее квадратическое отклонение ПМ; Kv – коэффициент вариации; HT – нейрогенный тонус стенки микрососудов; MT – миогенный тонус; ЭЗКТ – эндотелиальная активность (эндотелиально-зависимый компонент тонуса); ФНО-α – фактор некроза опухоли альфа; ИЛ-10 – интерлейкин-10; ЧСС – частота сердечных сокращений; ИММЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка; Е/А – соотношение пикового кровотока в период раннего наполнения левого желудочка и систолы левого предсердия; SDNN – среднее квадратическое отклонение; CV – коэффициент вариации; TP – общая мощность спектра; LF – мощность волн низкой частоты; HF – мощность волн высокой частоты; LF/HF – индекс вагосимпатического взаимодействия; ИЦ – индекс централизации; β-АРМ – β-адренорецепция клеточных мембран эритроцитов; иРАС – индекс регуляторно-адаптивного статуса; ^, ^^ – достоверные изменения (выделены жирным шрифтом) при сравнении до и после лечения, p < 0,01; < 0,001 соответственно.

Notes: MI – microcirculation index; σ – standard deviation for MI; Kv – coefficient of variation; NT – neurogenic microvascular tone; MT – myogenic tone; EDCT – endothelial activity (endothelium-dependent component of vascular tone); TNF-α – tumor necrosis factor α; IL-10 – interleukin-10; HR – heart rate; LVMMI – left ventricular myocardial mass index; E/A – ratio of peak blood flow during early left ventricular filling to peak blood flow during left atrial systole; NN – standard deviation; CV – coefficient of variation; TP – total power of spectrum; LF – low frequency wave power; HF – high frequency wave power; LF/HF – vagosympathetic interaction index; CI – centralization index; β-ARM – β-adrenoceptors of red blood cell membranes; iRAS – index of regulatory adaptive status; ^, ^^ – significant differences (bold print) between before and after treatment, p < 0.01; < 0.001, respectively.

ноприл, лозартан и сочетание лизиноприла с индапамидом, оказывающие значительное влияние на тип вегетативной регуляции обследуемых по данным ВСР, и к снижению β -АРМ. Терапия индапамидом и амлодипином привела к повышению симпатических влияний и увеличению показателя β -АРМ.

Нарушение механизмов системы регуляции артериального давления на интегративном уровне и их коррекция под влиянием антигипертензивной терапии. У лиц с ГБ до лечения наблюдалось снижение индекса РАС (на 46,5%) в сравнении с группой контроля, что соответствует данным и других авторов [17]. В результате 6-месячной терапии на фоне достижения целевых значений АД интегративный показатель ИРАС увеличился при лечении комбинацией лизиноприла и индапамида на 40,5%, амлодипином на 40,5%, лозартаном на 35,3%, лизиноприлом на 30,2%. Лечение препаратом из группы бета-блокаторов (небиволол) выявило некоторое снижение (на 12–13%) уровня ИРАС. Терапия индапамидом не оказывала значимого влияния на ИРАС.

Выводы

Материалы, представленные в настоящей статье, позволяют сделать 2 наиболее важных обобщения:

Контроль АД в организме человека осуществляется на основе общего принципа регуляции вегетативных функций – иерархической организации (соподчиненности) уровней регуляции. Для системы контроля артериального давления – это уровни: 1) интегративный, 2) вегетативного обеспечения (осуществляемый автономной нервной системой), 3) органной и 4) периферический (эндотелиально-микроциркуляторный). Такой подход позволяет оценить роль каждого из уровней регуляции АД в развитии гипертонической болезни и дать комплексную оценку эффективности проводимой терапии. Количественная оценка результирующей на интегративном уровне является универсальным показателем эффективности лечения.

Количественная характеристика эффективности терапии ГБ на интегративном уровне открывает возможность создания методологического подхода для определения эффективности лечения. Данный подход основан на оценке результативности воздействия терапии не только на орган- (или функцию)-мишень, но и на состояние организма как целостной системы. В конечном счете, качество лечения оценивается не столько степенью нормализации артериального давления, сколько изменением общего состояния человека, количественно определяемого индексом регуляторно-адаптивного статуса, который в свою оче-

редь может рассматриваться в качестве показателя риска развития осложнений.

Литература

(п.п. 1; 3-10; 13 см. References)

- Урясьев О.М., Шаханов А.В. Роль полиморфизма синтаза оксида азота в формировании коморбидной патологии – бронхиальной астмы и гипертонической болезни: *Казанский медицинский журнал*. 2017; 98(2): 226–32. <https://doi.org/10.17750/KMJ2017-226>
- Стрюк Р.И., Голикова А.А., Брыткова Я.В., Абдуразакова А.М. Вегетативный статус у женщин с гипертонической болезнью в перименопаузе и при беременности. *Кардиология*. 2012; 52(7): 36–41.
- Спицин А.П. Анализ корреляций параметров variability сердечного ритма у пациентов с артериальной гипертензией. *Клиническая физиология кровообращения* 2017; 14(3): 146–51. <https://doi.org/10.24022/1814-6910-2017-14-3-146-151>
- Покровский В.М. *Сердечно-дыхательный синхронизм в оценке регуляторно-адаптивных возможностей организма*: Краснодар: «Кубань-Книга»; 2010.
- Гаврилюк Е.В., Конопля А.И., Караулов А.В. Роль иммунных нарушений в патогенезе артериальной гипертензии. *Иммунология*. 2016; 37(1): 29–35. <https://doi.org/10.18821/0206-4952-2016-37-1-29-35>
- Нечаева Г.И., Семенкин А.А., Чиндарева О.И., Махрова Н.В. Гипертрофия левого желудочка при артериальной гипертензии как показатель сердечно-сосудистого риска и цель антигипертензивной терапии. *Сердце: журнал для практикующих врачей*. 2016; 15(4): 235–45. <https://doi.org/10.18087/rhj.2016.4.2218>
- Еремина М.А., Трегубов В.Г., Канорский С.Г., Покровский В.М. Регуляторно-адаптивный статус в определении эффективности биспролола и соталола у пациентов с пароксизмальной фибрилляцией предсердий и гипертонической болезнью. *Артериальная гипертензия*. 2016; 22(5): 476–87. <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2016-22-5-476-487>

References

- Rahmouni K. Cardiovascular Regulation by the Arcuate Nucleus of the Hypothalamus: Neurocircuitry and Signaling Systems. *Hypertension*. 2016; 67(6): 1064–71. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06425>
- Uryas'ev O.M., Shakhonov A.V. Role of nitric oxide synthases polymorphism in the development of comorbidity of bronchial asthma and hypertension: *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2016; 98(2): 226–32. (In Russian). <https://doi.org/10.17750/KMJ2017-226>
- Wu C., Arora P., Agha O. Novel MicroRNA Regulators of Atrial Natriuretic Peptide Production. *Mol Cell Biol*. 2016; 6(14): 1977–87.
- Roman R.J., Fan Fan, Zhuo J.L. Intrarenal Renin–Angiotensin System: Locally Synthesized or Taken up Via Endocytosis? *Hypertension*. 2016; 67: 831–3.
- Grassi G., Ram V. Evidence for a critical role of the sympathetic nervous system in hypertension. *J Am Soc Hypertens*. 2016; 5: 457–66. <https://doi.org/10.1016/j.jash.2016.02.015>
- Karemaker J. An introduction into autonomic nervous function. *Physiol Meas*. 2017; 5: 89–118. <https://doi.org/10.1088/1361-6579/aa6782>
- Ehret G.B., Ferreira T., Chasman D.I., Jackson A.U., Schmidt E.M., Johnson T., et al. The genetics of blood pressure regulation

- and its target organs from association studies in 342,415 individuals. *Nature Genetics*. 2016; 48(10): 1171. <https://doi.org/10.1038/ng.3667>
8. Liu C., Kraja A.T., Smith J.A., Brody J.A., Franceschini N., Bis J.C., Chasman D.I. Meta-analysis identifies common and rare variants influencing BP and overlapping with metabolic trait loci. *Nature Genetics*. 2016; 48(10): 1162–70. <https://doi.org/10.1038/ng.3660>
 9. Pokrovskii V.M., Polischuk L.V. Cardiorespiratory synchronism in estimation of regulatory and adaptive organism status. *Journal of Integrative Neuroscience*. 2016; 15(1): 19–35. <https://doi.org/10.1142/S0219635216500060.X>
 10. Pokrovskii V.M., Kompaniets O.G. Influence of the Level of Blood Pressure on the Regulatory–Adaptive State. *Human Physiology*. 2012; 38(5): 102–5.
 11. Ctryuk R.I., Golikova A.A., Brytkova YA.V., Abdurazakova A.M. Vegetative status in women with hypertension in perimenopause and during pregnancy. *Kardiologiya*. 2012; 52(7): 36–41. (In Russian)
 12. Spitsin A.P. Analysis of correlations of heart rate variability in patients with arterial hypertension. *Klinicheskaya fiziologiya krovoobrashcheniya*. 2017; 14(3): 146–51. (In Russian). <https://doi.org/10.24022/1814-6910-2017-14-3-146-151>
 13. Sala R., Malacarne M., Solaro N., Pagani M., Lucini D.A. Composite autonomic index as unitary metric for heart rate variability: a proof of concept. *European Journal of Clinical Investigation*. 2017; 47(3): 241–9. <https://doi.org/10.1111/eci.12730>
 14. Pokrovskij V.M. Cardiorespiratory synchronism in assessing the regulatory and adaptive capabilities of the body. [*Serdechno-dykhatel'nyy sinkhronizm v otsenke regulatorno-adaptivnykh vozmozhnostey organizma*]. Krasnodar, «Kuban'-Kniga». 2010. (In Russian)
 15. Gavriluk E.V., Konoplya A.I., Karaulov A.V. Role of immune disturbances in the pathogenesis of the arterial hypertension. *Immunologiya*. 2016; 37(1): 29–35. (In Russian) <https://doi.org/10.18821/0206-4952-2016-37-1-29-35>
 16. Nechaeva G.I., Semenkin A.A., Chindareva O.I., Makhrova N.V. Left ventricular hypertrophy in arterial hypertension as an indicator of cardiovascular risk and the goal for antihypertensive therapy. *Serditse: zhurnal dlya praktikuyushchikh vrachev*. 2016; 15(4): 235–45. (In Russian)
 17. Eremina M.A., Tregubov V.G., Kanorsky S.G., Pokrovsky V.M. Regulatory and adaptive status: bisoprolol and sotalol in co-existent hypertension and paroxysmal atrial fibrillation. *Arterial'naya Gipertenziya*. 2016; 22(5): 476–87. (In Russian) <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2016-22-5-476-487>

Сведения об авторах:

Покровский Владимир Михайлович, доктор мед. наук, проф, зав. каф. нормальной физиологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России;

Елисеева Людмила Николаевна, доктор мед. наук, проф., зав. каф. факультетской терапии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России;

Самородская Наталья Анатольевна, канд. мед. наук, доцент каф. факультетской терапии, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, e-mail: docsam@mail.ru

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-092.6

Наточин Ю.В.¹, Кузнецова А.А.^{1,2}, Нистарова А.В.^{1,2}

Na⁺/K⁺ отношение в сыворотке крови при орфанных заболеваниях

¹ФГБНУ «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН»

194223, Санкт-Петербург, Россия, проспект Тореза, д. 44;

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России,

194100, Санкт-Петербург, Россия, ул. Литовская, д. 2

Введение. Концентрация Na⁺ и K⁺ в клетке и внеклеточной жидкости обуславливает фундаментальные свойства организма. В работе использовано Na⁺/K⁺ отношение сыворотки крови как патофизиологический критерий состояния человека при сходной патологии легких, но генетически разных орфанных заболеваниях.

Цель исследования – изучение соотношения концентрации ионов Na⁺ и K⁺ в сыворотке крови как интегрального патофизиологического параметра базовой функции клеток при орфанных заболеваниях сопряженных с патологией легких.

Методика. Обследованы 99 детей, в том числе 50 с 3 формами орфанной патологии легких. Среди них 24 ребенка с муковисцидозом (МВ), 15 детей с первичным иммунодефицитом (ПИД), 11 – с первичной цилиарной дискинезией (ПЦД). Контрольную группу составили 15 здоровых детей, группу сравнения – 34 пациента с внебольничной пневмонией, в том числе 15 с тяжелым течением. Возраст обследованных от 3 мес до 17 лет. Концентрация ионов Na⁺, K⁺, Cl⁻, измерялась ионоселективными электродами на анализаторе Erba XL-200, креатинина – кинетическим методом по реакции Яффе без депротеинизации на анализаторе Erba XL-200.

Результаты. Концентрация Na⁺ и K⁺ в сыворотке крови у пациентов всех групп соответствовала стандартам нормы, однако расчет Na⁺/K⁺ отношения выявил статистически значимые отличия от показателей контрольной группы (30.40 ± 0.48) у пациентов с МВ, ПИД, ПЦД и при внебольничной пневмонии средней степени тяжести – 32.7±0.8, 33.2±0.9, 32.83±0.8 и 33±1, соответственно, (p<0.05). Различий при разных вариантах орфанных болезней не выявлено. Резкое увеличение Na⁺/K⁺ отношения наблюдалось в остром периоде пневмонии с тяжелым течением 38.8±1.1 (p<0.001). Повышение Na⁺/K⁺ отношения обусловлено снижением концентрации K⁺ в сыворотке крови. Клиренс креатинина сохраняется в границах нормы, что свидетельствует о сохранности гомеостатической, ионорегулирующей функции почек.

Заключение. Na⁺/K⁺ отношение в сыворотке крови повышено у пациентов с орфанными заболеваниями органов дыхания и при пневмонии у детей. Острое увеличение Na⁺/K⁺ отношения в сыворотке наступает при резком ухудшении состояния пациентов. Высказано предположение, что увеличение Na⁺/K⁺ отношения в сыворотке крови обусловлено изменением функционального состояния клеток, их объема.

Ключевые слова: гомеостаз; натрий; калий; сыворотка крови; орфанные заболевания; пневмония

Для цитирования: Наточин Ю.В., Кузнецова А.А., Нистарова А.В. Na⁺/K⁺ отношение в сыворотке крови при орфанных заболеваниях. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(3): 34-41.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.34-41

Участие авторов: концепция и дизайн работы – Наточин Ю.В., Кузнецова А.А., Нистарова А.В.; сбор и обработка материала – Кузнецова А.А., Нистарова А.В.; подготовка иллюстративного материала, статистическая обработка – Нистарова А.В., написание текста – Наточин Ю.В., Кузнецова А.А., Нистарова А.В., редактирование – Наточин Ю.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи — все авторы.

Для корреспонденции: Наточин Юрий Викторович, e-mail: natochin1@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках госзадания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 03.06.2021

Принята к печати 30.06.2021

Опубликована 30.09.2021

Natochin Yu.V.¹, Kuznetsova A.A.^{1,2}, Nistarova A.V.^{1,2}

The blood serum Na⁺/K⁺ ratio in orphan diseases

¹I.M Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry,
Thoreza Prospekt 44, Saint Petersburg 194223, Russia;

²Saint Petersburg State Pediatric Medical University,
Litovskay St. 2, Saint Petersburg 194100, Russia

Introduction. Concentrations of Na⁺ and K⁺ in the cell and in the extracellular fluid determine fundamental properties of the organism. The study used the blood serum Na⁺/K⁺ ratio as a pathophysiological criterion for the state of patients with similar pathologies of the lungs but with genetically different orphan diseases.

The aim of the study was to evaluate the Na⁺/K⁺ concentration ratio in the blood serum as an integral pathophysiological parameter of the basic cell function in orphan diseases associated with lung pathology.

Methods. 99 children were examined, including 24 with cystic fibrosis (CF), 15 with primary immunodeficiency (PIDs), and 11 with primary ciliary dyskinesia (PCD). The control group consisted of 15 healthy children and the comparison group consisted of 34 patients with community-acquired pneumonia, including 15 with severe disease. The patients aged from 3 mos. to 17 years. Concentrations of Na⁺, K⁺, and Cl⁻ were measured with ion-selective electrodes on an Erba XL-200 analyzer; creatinine was measured by the kinetic method using the Jaffe reaction without deproteinization on an Erba XL-200 analyzer.

Results. Concentrations of Na⁺ and K⁺ in blood serum in all groups corresponded to normal, standard values. The Na⁺/K⁺ ratio was 30.4±0.48 in healthy people, 32.7±0.8, 33.2±0.9, 32.83±0.8, and 33±1 in patients with CF, PIDs, PCD, or community-acquired pneumonia of moderate severity, respectively ($p < 0.05$). All these values were significantly higher than in the control group ($p < 0.05$). However, there were no differences for different orphan diseases. A sharp increase in the Na⁺/K⁺ ratio was revealed in the acute period of severe pneumonia (38.8±1.1, $p < 0.001$). The increase in Na⁺/K⁺ ratio was due to a decrease in serum K⁺ concentration. The creatinine clearance remained within the normal range, which indicated preservation of the homeostatic, ion-regulating function of the kidneys.

Conclusion. The Na⁺/K⁺ ratio is increased in patients with orphan respiratory diseases and in children with pneumonia. A sharp increase in the Na⁺/K⁺ ratio is a manifestation of acute deterioration of the patient's condition. Apparently, the increase in serum Na⁺/K⁺ ratio is caused by a change in cell volume.

Keywords: homeostasis; sodium; potassium; blood serum; orphan diseases; pneumonia

For citation: Natochin Yu.V., Kuznetsova A.A., Nistarova A.V. The blood serum Na⁺/K⁺ ratio in orphan diseases. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal. 2021; 65(3): 34-41.* DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.34-41

Contributions: concept and design of work – Natochin Yu.V., Kuznetsova A.A., Nistarova A.V.; collection and processing of material – Kuznetsova A.A., Nistarova A.V.; preparation of illustrative material, statistical processing – Nistarova A.V., writing text – Natochin Yu.V., Kuznetsova A.A., Nistarova A.V., editing – Natochin Yu.V.

For correspondence: *Yury V. Natochin.*, Russian Academy of Sciences, Doctor of Biological Sciences, Principal Researcher of Laboratory of Renal Physiology and Water Salt Balance, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, 44 Thorez prospekt, 194223, Saint-Petersburg, Russia; e-mail: natochin1@mail.ru

Acknowledgments. The work was completed as part of the State Assignment.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest. The materials of the article have not been published anywhere before.

Information about the authors:

Natochin Yu.V., <https://orcid.org/0000-0003-2075-5403>

Kuznetsova A.A., <https://orcid.org/0000-0002-0157-4175>

Received: 03.06.2021

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

Введение

Классической персонифицированный подход российской медицины состоит в реализации ключевого положения о необходимости лечения больного, а не болезни. У разных пациентов клиническая картина даже при одной форме патологии может отличаться, ибо это результат взаимодействия патологического агента и организма. В то же время, есть общие закономерности течения болезни, которые характеризуются сходством симптомов. Задача настоящей работы состо-

яла в попытке выяснить, имеется ли общее проявление патологического процесса в разнородной клинической группе орфанных болезней легких. В настоящее время описано более 8000 орфанных заболеваний разных органов и систем, которые выявлены почти у 8% жителей Земли, общее число больных достигает 350 млн человек. К орфанным относятся болезни, обнаруживаемые не чаще, чем один случай на 10 000 населения [1]. Естественно, у каждого пациента эта форма патологии

специфична, что находит выражение в характере генетического дефекта и его объективных проявлениях [2]. При патологии легких в организме пациента при дефекте одного и того же гена индивидуальные особенности реакции могут отличаться по характеру и силе компенсаторных реакций, что отражается на особенностях течения болезни. В то же время имеются общие симптомы, в основе которых лежат одинаковые фундаментальные клиничко-физиологические проявления при разных типах орфанных заболеваний. Их выявление важно для глубокого понимания патогенеза, объективной оценки состояния обследуемого и применения адекватной терапии. Изменения водно-солевого обмена часто сопутствуют многим заболеваниям [3-5].

Одной из общих характеристик клеток организма служит величина мембранного потенциала, зависящего от отношения концентрации катионов во внеклеточной жидкости — Na^+ , и K^+ как основного внутриклеточного катиона. В патофизиологии критерием является концентрация этих катионов в сыворотке крови. Можно предположить, что для реализации функций организма жизненно важное значение имеет не только абсолютное значение концентрации Na^+ и K^+ , но и их соотношение в сыворотке крови. Другим параметром, зависимым от концентраций этих катионов, служит объем каждой клетки. Он зависит, прежде всего, от содержания K^+ в цитоплазме и осмоляльности внеклеточной жидкости, определяемой преимущественно концентрацией в ней Na^+ . В этой связи ценность представляет исследование Na^+/K^+ отношения в сыворотке крови. Такой подход не рассматривался в литературе, но он мог оказаться продуктивным.

Цель настоящего исследования — изучение соотношения концентрации Na^+ и K^+ в сыворотке крови при клинически и генетически верифицированных формах орфанных заболеваний легких.

Методика

Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2004) и письменного добровольного информированного согласия родителей. Работа одобрена этическим комитетом ФГБОУ ВО СПбГПМУ МЗ РФ. Протокол №5/4 от 06.05.2019 г.

Концентрация Na^+ и K^+ в сыворотке крови у всех пациентов определялась с помощью ионоселективного блока на автоматическом биохимическом анализаторе «Erba XL-200» (Чехия). Концентрация креатинина в сыворотке измерялась кинетическим методом по реакции Яффе без депротенинизации на автоматическом биохимическом анализаторе «Erba XL-200» (Чехия).

Пробы крови после взятия и свертывания немедленно центрифугировали при температуре 4°C на центрифуге «Micro22R Hettich» (Германия). Все данные представлены в виде $M \pm m$ (среднее значение \pm ошибка среднего). Сравнение между группами проводили с использованием одно- или двухфакторного дисперсионного анализа и теста Холм-Шидака для попарного сравнения средних значений. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Обследовано 99 детей, в том числе 50 с 3 формами орфанной патологии легких. Среди них 24 ребенка с муковисцидозом (МВ) в стадии обострения и ремиссии (девочки — 11, мальчики — 13) [6, 7], клиническая симптоматика в зависимости от характера мутаций генов при МВ представлена в **табл. 1**; 15 детей с первичным иммунодефицитом (ПИД) (девочки — 4, мальчики — 11), у 7 пациентов диагноз ПИД подтвержден при генетическом обследовании [8] (**табл. 1**); 11 пациентов с ПЦД (девочки — 7, мальчики — 4) [9]. В качестве группы сравнения обследованы пациенты с внебольничной пневмонией. В группу вошли 34 пациента с пневмонией, в их числе 19 с течением средней тяжести (ПНср) (девочки — 9, мальчики — 10), 15 пациентов с тяжелым течением пневмонии (ПНтяж) (девочки — 8, мальчики — 7). Контрольная группа (КГ) включала — 15 здоровых детей, которые обследовались для занятий в спортивной школе, не имели хронических заболеваний, у них не было интеркуррентной инфекции. Возраст всех пациентов составил от 3 мес до 17 лет.

Результаты и обсуждение

Установлено, что концентрация Na^+ , K^+ и Cl^- в сыворотке крови у пациентов всех групп соответствует стандартам возрастной нормы у детей (**табл. 2**). Однако найдены отличия Na^+/K^+ отношения в сыворотке крови: в группе контроля оно составляет 30,4, у пациентов с МВ, ПИД, ПЦД, при хронической форме болезни оно статистически значимо выше (**рис. 1**). У всех пациентов с тяжелым течением пневмонии Na^+/K^+ отношение статистически значимо возросло при сопоставлении с остальными обследованными и нормализовалось после лечения (**рис. 1**).

У части больных с тяжелым течением пневмонии лечение проводилось в отделении реанимации, Na^+/K^+ отношение у этих пациентов было резко повышенным, и снижалось при уменьшении симптомов интоксикации и дыхательной недостаточности, положительной рентгенологической динамике органов грудной полости (**рис. 1, табл. 3**).

Очевидно, что Na^+/K^+ отношение зависит от концентрации каждого из этих катионов в сыворотке кро-

ви. Для ответа на вопрос о том, какой из катионов имеет определяющее значение в сдвиге Na^+/K^+ отношения, последнее было сопоставлено с концентрацией каждого катиона в сыворотке крови у того же обследованного. Оказалось, что определяющим фактором служит изменение концентрации K^+ (рис. 2), а не Na^+ в сыворотке крови (рис. 3). Функционально это, по-видимому, говорит о перемещении части ионов K^+ из сыворотки крови в клетки для поддержания их объема и мембранного потенциала.

Колебания концентрации в сыворотке крови в норме достигают для Na^+ 9 ммоль/л (6.4%), для K^+ – 1.8 ммоль/л (41.9%) [10]. Проведенный анализ показывает, что у обследованных детей Na^+/K^+ соотношение было тем меньше, чем выше была у них концентрация ионов K^+ в сыворотке крови (рис. 2). Из этого следует, что либо непрерывно поддерживается необходимый градиент концентрации этих катионов сыворотке крови и к нему устанавливается адекватная концентрация K^+ , либо имеется специальный механизм

Таблица 1/Table 1

Характер поражения легких при генетических дефектах у обследованных детей

The lung damage in children with genetic defects

Диагноз	N	Возраст	Поражение легких	Генетический дефект
МВ (MV)	6	6	ХБ+ДБ (CB+BB)	delF508 (гетерозигота)
	6	6	ХБ+ДБ (CB+BB)	delF508 (гомозигота)
	2	2	ХБ+ДБ (CB+BB)	394 delTT (гетерозигота)
	1	1	ХБ+ДБ (CB+BB)	2184 ins A
	1	1	ХБ+ДБ (CB+BB)	R344W
	1	1	ХБ+ДБ (CB+BB)	Gly480Asp в экзоне 11
Синдром Ниймеген	2	7-12	ИЗЛ (ILD)	NBN 657del5, гомозигота
ТКИН (SCID)	1	1	ИЗЛ (ILD)	JAK3
НИД (NID)	1	10	ХБ (CB)	SAMA3Ep. Ser703Leu
ОВИН (CVID)	1	17	ИЗЛ (ILD)	NCF4- chr22:g.37271875C>T
ХГБ (CGD)	1	13	ХБ (CB)	CYBB: протяжённая делеция 7 экзона
САФК (ARCS)	1	5	ИЗЛ (ILD)	PIK3CD c.3061G>A p.E1021K

Примечание. МВ – муковисцидоз ТКИН – тяжелая комбинированная иммунная недостаточность; НИД – недифференцированный иммунодефицит; ОВИН – общая переменная иммунная недостаточность; ХГБ – хроническая гранулематозная болезнь, САФК – синдром активированной фосфоинозитид-3-киназы δ ; ИЗЛ – интерстициальное заболевание легких, ХБ – хронический бронхит, ДБ – двусторонние бронхоэктазы.

Note. MV – mucoviscidosis; SCID – severe combined immunodeficiency; NID – undifferentiated immunodeficiency; CVI – common variable immunodeficiency; CGD – chronic granulomatous disease, APKS – activated phosphoinositide 3-kinase δ syndrome; ILD – interstitial lung disease, CB, – chronic bronchitis; BB, – bilateral bronchiectases.

Таблица 2/Table 2

Концентрация ионов и креатинина в сыворотке крови у детей с орфанными заболеваниями

Serum concentrations of ions and creatinine in children with orphan diseases

Показатели	Норма	МВ, n 24	ПИД, n 15	ПЦД, n 11	КГ, n 15
P_{Na^+} , ммоль/л	136-145	139±1	141±0.8* [‡]	141±0.6* [‡]	139±0.2
P_{K^+} , ммоль/л	3.4-4.7	4.3±0.1* [‡]	4.3±0.1* [‡]	4.3±0.1 [‡]	4.6±0.1
P_{Cl^-} , ммоль/л	98-107	104±1	104±0.4*	106±0.4*	103±0.4
P_{Cr^+} , мкмоль/л	27-88	50±2*	50±4*	54±5*	80±2

Примечание. Норма по [10]. * $p < 0.05$ к КГ; [‡] $p < 0.05$ к Пнтяж.

Note. normal values according to [10]. * $p < 0.05$ as compared to the control group; [‡] $p < 0.05$ as compared to the PNsev. Group. КГ – control group; ПИД – primari immunodeficiency; ПЦД – primari ciliari dyskinesia.

стабилизации уровня K^+ в сыворотке, а остальные параметры зависят от нее. Гомеостаз K^+ строго контролируется, зависит от влияния многочисленных физиологически активных веществ, но плохо корригируется медикаментозными средствами [11].

Выбор для изучения катионов Na^+ и K^+ , расчет Na^+/K^+ отношения, но не аналогичных зависимостей для ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} , которые имеют огромное значение в функции клеток, особенно при наследственных заболеваниях, обусловлен тем, что участие неорганических ио-

нов в регуляции функций зависит от их ионизированных форм. У человека 50% Ca^{2+} и 25% Mg^{2+} находится в сыворотке крови в связанной форме, а основное количество Na^+ и K^+ представлено свободными ионами. Концентрация Ca^{2+} в сыворотке крови составляет 2.5 ммоль/л, в виде ионов имеется только 1.15 ммоль/л, остальное количество Ca^{2+} связано с белками или низкомолекулярными органическими кислотами. Это означает, что физиологически в реакциях участвует часть ионов этих металлов, а не все их количество в сыворотке крови.

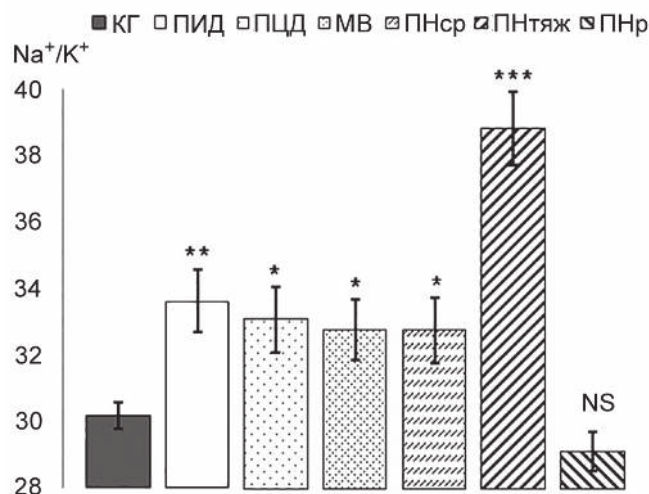


Рис. 1. Na^+/K^+ отношение в сыворотке крови пациентов. По оси ординат – Na^+/K^+ отношение в сыворотке крови. Условные обозначения: ПНр – пневмония (реконвалесцент), остальные аббревиатуры см. в тексте. * $p=0.02$; ** $p=0.002$; *** $p=0.0001$, NS – не достоверно, рассчитано по отношению к КГ.

Fig. 1. The Na^+/K^+ ratio in the blood serum of patients. Bars show the Na^+/K^+ ratio in the blood serum. PNr, pneumonia (reconvalescence). See the text for other abbreviations. * $p=0.02$; ** $p=0.002$; *** $p=0.0001$, NS – non-significant, calculated relative to control group.

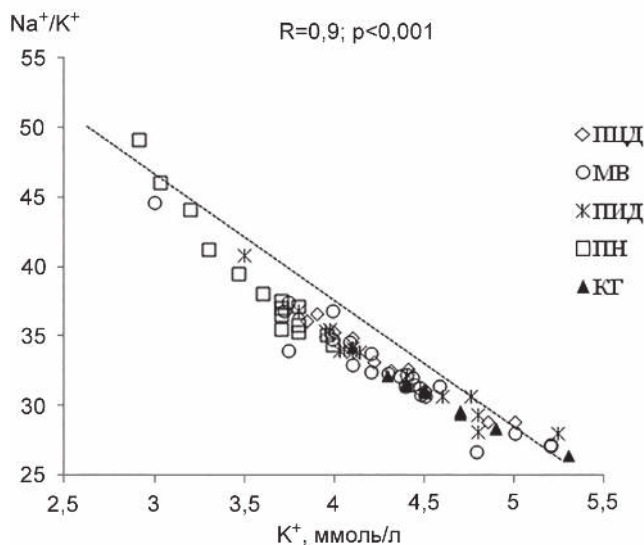


Рис. 2. Зависимость между Na^+/K^+ отношением и концентрацией K^+ в сыворотке крови при орфанных заболеваниях у детей. По оси ординат – Na^+/K^+ отношение, по оси абсцисс – концентрация K^+ .

Fig. 2. Dependence between the serum Na^+/K^+ ratio and the serum K^+ concentration in children with orphan diseases Ordinate, Na^+/K^+ ratio; abscissa, K^+ concentration.

Таблица 3/ Table 3

Концентрация ионов и креатинина в сыворотке крови у детей с внебольничной пневмонией

Serum concentrations of ions and creatinine in children with community-acquired pneumonia

Показатели	ПНср, n 19	ПНтяж, n 15	ПНтяж, леч, n 15	КГ, n 15
P_{Na^+} , ммоль/л	144±1*	138±0.8	138±0.6*	139±0.2
P_{K^+} , ммоль/л	4.4±0.1	3.6±0.1*	4.7±0.1 [‡]	4.6±0.1
P_{Cl^-} , ммоль/л	103±2	105±0.8	102±1.2	103±0.4
P_{Cr^+} , мкмоль/л	82±3*	52±5*	45±3*	80±2

Примечание. ПНтяж, леч – тяжелая пневмония на фоне лечения. * $p<0.05$ к КГ; [‡] $p<0.05$ к ПНтяж. Значение в норме концентрации веществ см. табл. 2.

Note. Pnsev. treat – severe pneumonia during treatment. * $p<0.05$ as compared to the control group; [‡] $p<0.05$ – as compared to the Pnsev group. Normal values of agent concentrations see in Table 2.

Важное значение в водно-солевом гомеостазе принадлежит почкам. Во всех случаях орфанных заболеваний концентрация креатинина находилась в пределах нормальных значений (табл. 2), что свидетельствовало о поддержании уровня гломерулярной фильтрации в почке на адекватном уровне. Na^+/K^+ отношение при орфанных заболеваниях может зависеть от сдвига концентрации этих катионов в сыворотке крови при нарушении регуляции транспорта ионов в почке. Примером служит обследованный пациент с МВ в сочетании с синдромом псевдо-Барттера, когда изменен транспорт хлоридов и катионов [12], что вызывает резкий сдвиг Na^+/K^+ отношения. При поступлении в клинику у пациента наблюдалась многократная рвота, снижение аппетита, вялость, выявлен метаболический алкалоз, гипонатриемия и гипокалиемия. Для купирования острой ситуации ребенку была проведена инфузионная терапия с 4% KCl, затем был применен регос солевой раствор Humana Electrolit + 4% KCl, который пациент жадно пил, несмотря на очень горький вкус. Стремление пить солевой раствор исчезло у ребенка после восстановления концентрации катионов в сыворотке крови.

Эти данные свидетельствуют о том, что у пациента с МВ острое нарушение концентрации Na^+ и K^+ на-

ходит отражение в изменении солевого аппетита, что имеет диагностическое значение. Использование этого показателя, как симптома предвестника, позволит начать лечение на более ранних стадиях развития болезни. Таким образом, выявлено новое патогенетическое звено в функциональной организации системы регуляции водно-солевого обмена, которое выражается в обостренной чувствительности системы регуляции солевого аппетита, обеспечивающего комплекс физиологических реакций по стабилизации объема клеток, мембранного потенциала при введении солей этих металлов для нормализации концентрации ионов в околоклеточной жидкости.

Резкое увеличение Na^+/K^+ отношения при МВ и ПНтяж патогенетически могло быть связано с активностью воспалительного процесса. Сопоставление этих величин с концентрацией С-реактивного белка (СРБ) и СОЭ выявило высоко статистически значимую зависимость Na^+/K^+ отношения и концентрации СРБ в сыворотке у пациентов с тяжелым течением пневмонии (рис. 5). На фоне антибактериальной терапии и улучшения состояния пациента уменьшалась концентрация СРБ и происходило восстановление Na^+/K^+ отношения (рис. 5). Такой картины не найдено при изучении зависимо-

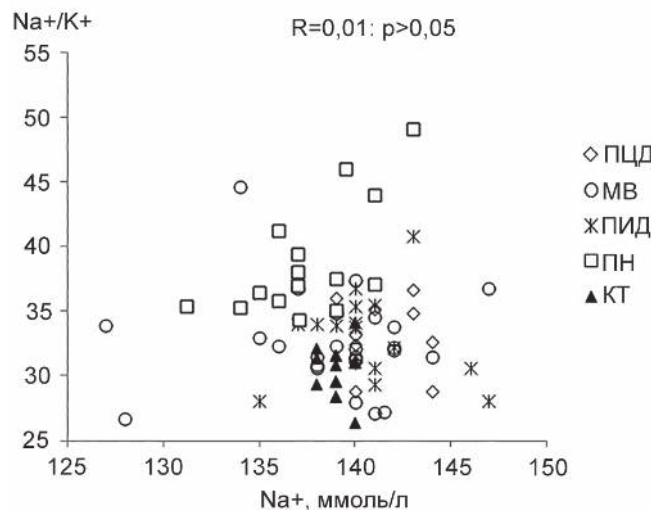


Рис. 3. Зависимость между Na^+/K^+ отношением и концентрацией Na^+ в сыворотке крови при орфанных заболеваниях. По оси ординат – Na^+/K^+ отношение, по оси абсцисс – концентрация Na^+

Fig. 3. Dependence between the serum Na^+/K^+ ratio and the serum Na^+ concentration in children with orphan diseases. Ordinate – Na^+/K^+ ratio; abscissa – Na^+ concentration.

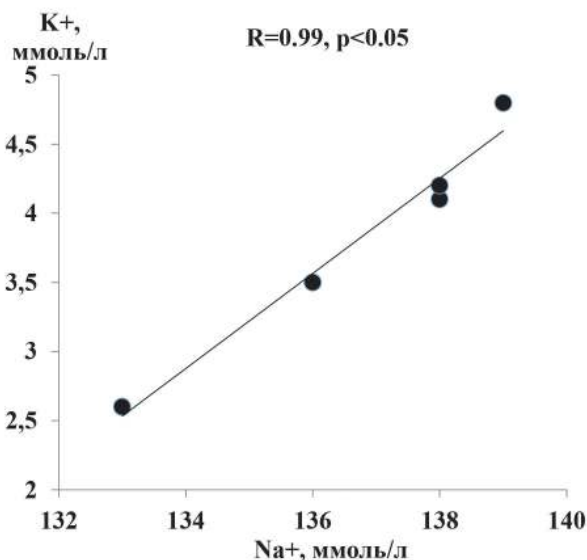


Рис. 4. Зависимость между концентрацией Na^+ и K^+ в сыворотке крови в динамике лечения остро развившегося синдрома псевдо-Барттера. По оси ординат – концентрация K^+ в сыворотки крови, по оси абсцисс – концентрация Na^+ в сыворотке крови.

Fig. 4. Dependence between serum concentrations of Na^+ and K^+ during the treatment of acute pseudo-Bartter syndrome. Ordinate – serum K^+ concentration; ratio; abscissa – serum Na^+ concentration в сыворотке крови.

сти Na^+/K^+ отношения и СОЭ у тех же пациентов ($r = 0.22, p = 0.3$).

Таким образом, рост Na^+/K^+ отношения может быть связан с потерей K^+ из организма или перераспределением ионов K^+ между клеткой и сывороткой крови, когда часть K^+ смещается в клетки для восстановления их объема. Это наблюдается при орфанных заболеваниях и сопровождается повышением Na^+/K^+ отношения по сравнению с КГ. При остром течении заболевания, нарастании отека клеток повышается Na^+/K^+ отношение, например, в остром периоде пневмонии, оно купируется в процессе лечения.

Предположение о перераспределении K^+ между клеткой и околочелюточной жидкостью в генезе изменения Na^+/K^+ отношения в сыворотке крови основано на том, что процесс обострения заболевания и восстановления происходит быстро и не затрагивает баланса K^+ в организме. Полученные данные о динамике изменения Na^+/K^+ отношения в сыворотке крови при патологическом процессе представляют интерес для общей патофизиологии. Результаты проведенных исследований существенны для обсуждения общего вопроса патологической физиологии – необходимости анализировать не только величины концентрации катионов в сыворотке крови, но и их соотношение. Концентра-

ция ионов Na^+ и K^+ в сыворотке крови служит отражением влияния многих гормонов на эффекторные органы, перераспределения ионов между жидкостными фазами организма, между цитоплазмой клеток и околочелюточной жидкостью. Использованный критерий – отношение между внеклеточным Na^+ и внутриклеточным K^+ , в сыворотке крови, вероятно, может рассматриваться как один из интегральных параметров состояния системы водно-солевого гомеостаза при развитии патологического процесса и эффективности восстановления.

Заключение

Сопоставление клинической картины у пациентов с орфанной патологией и лабораторных данных свидетельствует об однотипном изменении ключевого параметра, влияющего на мембранный потенциал клеток. В его формировании в клетках организма человека основная роль принадлежит концентрации ионов Na^+ во внеклеточной жидкости (сыворотка крови) и K^+ в цитоплазме клеток. Интегральный параметр – Na^+/K^+ отношение в сыворотке можно рассматривать, как отдельный показатель. Более того, при пневмонии его величина отличается в острой фазе болезни и при реконвалесценции, что хорошо соотносится с динамикой СРБ, но не с СОЭ. Увеличение Na^+/K^+ отношения может быть связано с отеком клеток и переходом части K^+ в клетки. Острое увеличение Na^+/K^+ может служить предвестником начинающегося резкого ухудшения состояния организма.

Литература

(п.п. 1; 2; 4; 12 см. References)

- Шейман Д.А. *Патофизиология почки*. М: БИНОМ; 2019.
- Наточин Ю.В., Кузнецова А.А., Прокопенко А.В. Исследование функционального состояния почек у детей с муковисцидозом. *Педиатрия*. 2018; 97(5): 36-40. <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2018-97-5-36-40>
- Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., ред. *Муковисцидоз*. М.: Медпрактика-М; 2014.
- Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с кистозным фиброзом (муковисцидозом)*. 2015: 31.
- Мухина А.А., Кузьменко Н.Б., Родина Ю.А., Кондратенко И.В., Бологов А.А., Латышева Т.В. и др. Характеристика пациентов с первичными иммунодефицитными состояниями в Российской Федерации: от рождения до старости. *Педиатрия*. 2019; 98(3): 24-31. <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2019-98-3-24-3>
- Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с первичной цилиарной дискинезией*. 2015; 8.
- Марина А.С., Наточин Ю.В. *Анализ крови и мочи в клинической диагностике: справочник педиатра*. СПб: СпецЛит; 2016.
- Наточин Ю.В., Голосова Д.В., Каюков И.Г. Константы концентрации калия и натрия в сыворотке крови – поиск факто-

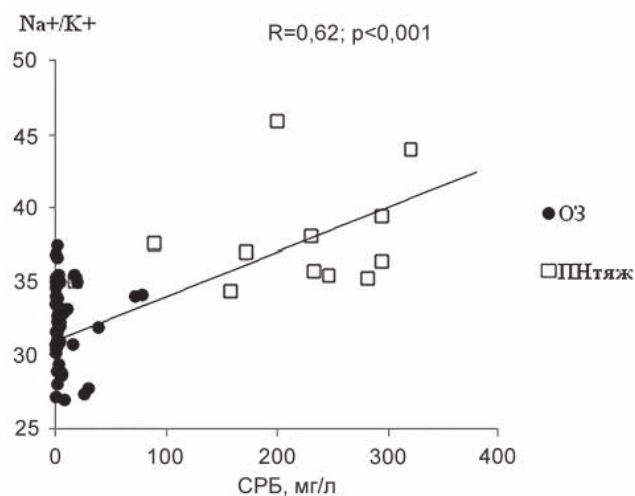


Рис. 5. Зависимость между Na^+/K^+ и СРБ в сыворотке крови при орфанных заболеваниях и ПНтяж. По оси ординат – концентрация Na^+/K^+ , по оси абсцисс – концентрация С – реактивного белка. Условные обозначения: ОЗ – орфанные заболевания.

Fig. 5. Dependence between the serum Na^+/K^+ ratio and the serum C-reactive protein (CRP) concentration in children with orphan diseases and severe pneumonia. Ordinate – Na^+/K^+ ratio; abscissa – CRP concentration; ОЗ – orphan diseases (OD).

ров регуляции. *Физиология человека*. 2018; 44(4): 67-73. <https://doi.org/10.1134/S0131164618040100>

References

1. Klimova B., Storek M., Valis M., et al. Global View on Rare Diseases: A Mini Review. *Curr Med Chem*. 2017; 24(29): 3153-58. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170511111803>
2. Wise A.L., Manolio T.A., Mensah G.A., et al. Genomic Medicine for Undiagnosed Diseases. *Lancet*. 2019; 394(10197): 533-40. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31274-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31274-7)
3. Sheyman D.A. *Pathophysiology of the kidney. [Patofiziologiya pochki]*. Moscow: BINOM; 2019. (in Russian)
4. Natochin Yu.V., Kuznetsova A.A., Prokopenko A.V., et al. Osmoregulation in children with cystic fibrosis. *Eur. J. Ped*. 2020; 179: 835-8. <https://doi.org/10.1007/s00431-019-03550-1>
5. Natochin Yu.V., Kuznetsova A.A., Prokopenko A.V. Research of kidneys functional state in children with cystic fibrosis. *Pediatriya*. 2018; 97(5): 36-40. <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2018-97-5-36-40> (in Russian)
6. Kapranov N.I., Kashirskaya N.Yu., ed. *Cystic fibrosis. [Mukovitsidoz]*. Moscow: Medpraktika-M; 2014. (in Russian)
7. *Federal clinical guidelines for the provision of medical care to children with cystic fibrosis (cystic fibrosis)*. 2015: 31. (in Russian)
8. Mukhina A.A., Kuzmenko N.B., Rodina Yu.A., Kondratenko I.V., Bologov A.A., Latysheva T.V., et al. Characteristics of patients with primary immunodeficiency conditions in the Russian Federation: from birth to old age. *Pediatriya*. 2019; 98(3): 24-3. <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2019-98-3-24-31> (in Russian)
9. *Federal clinical guidelines for the provision of medical care to children with primary ciliary dyskinesia. [Federal'nye klinicheskie rekomendatsii po okazaniyu meditsinskoy pomoshchi detyam s pervichnoy tsiliar-noy diskinezijey]*. 2015: 8. (in Russian)
10. Marina A.S., Natochin Yu.V. *Blood and urine analysis in clinical diagnosis: a pediatrician's guide. [Analiz krovi i mochi v klinicheskoy diagnostike: spravochnik pediatra]*. Saint-Petersburg: SpetsLit; 2016. (in Russian)
11. Natochin Yu. V., Golosova D. V., Kayukov I. G. Blood Serum Potassium and Sodium Concentration Constants Search of Regulatory Factors. *Fiziologiya cheloveka*. 2018; 44(4): 67-73. (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S0131164618040100>
12. Faraji-Goodarzi M. Pseudo-Bartter syndrome in children with cystic fibrosis. *Clin Case Rep*. 2019; 7(6): 1123-6. <https://doi.org/10.1002/ccr3.2180>

Сведения об авторах:

Наточин Юрий Викторович, доктор биол. наук, проф., acad. РАН, гл. науч. сотр. лаб. физиологии почки и водно-солевого обмена, ФГБНУ «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН», e-mail: natochin1@mail.ru;

Кузнецова Алла Александровна, доктор мед. наук, проф. каф. факультетской педиатрии, ФГБНУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, вед. науч. сотр. лаб. физиологии почки и водно-солевого обмена, ФГБНУ «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН», e-mail: pediatr-kuznetsova@yandex.ru;

Нистарова Анастасия Витальевна, врач-педиатр ФГБНУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России; мл. науч. сотр. ФГБНУ «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН», e-mail: anastasiyaprokopenko@bk.ru

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-092.9+612.841.1

Панов А.А., Ржавина Е.М., Морозова М.П., Ердяков А.К., Гаврилова С.А.

Влияние длительной гипергликемии на морфологию роговицы и сетчатки у крыс при стрептозотоцин-индуцированном сахарном диабете

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»,
119991, Москва, Россия, Ломоносовский проспект, д. 27, корп. 1

Цель исследования – изучение динамики морфологических изменений роговицы и заднего отдела глаза крыс при длительной гипергликемии.

Методика. Исследование выполнено на 36 самцах крыс Wistar. Сахарный диабет индуцировали внутрибрюшинной инъекцией стрептозотоцина (65 мг/кг), после чего ежедневно вводили подкожно малые дозы инсулина (2 ЕД/кг). На 50-е, 58-е и 66-е сут эксперимента производили энуклеацию глаз у глубоко наркотизированных животных. Гистологические срезы фрагментов глаз окрашивали гематоксилин-эозином, проводили морфометрию параметров роговицы и сетчатки.

Результаты. Средняя концентрация глюкозы и кетоновых тел крови в группе сахарного диабета составила 29,8 ммоль/л и 0,889 ммоль/л, в контрольной группе – 6,2 ммоль/л и 0,847 ммоль/л соответственно. Анализ гистологических срезов глаз выявил признаки отека роговицы, хориоидеи и наружных слоев центральных отделов сетчатки до появления других качественных и количественных морфологических изменений.

Заключение. Оценка толщины роговицы, хориоидеи и наружных слоев центральных отделов сетчатки может служить предиктором развития диабетической ретинопатии.

Ключевые слова: гипергликемия; сахарный диабет; диабетическая ретинопатия; роговица; хориоидея; сетчатка

Для цитирования: Панов А.А., Ржавина Е.М., Морозова М.П., Ердяков А.К., Гаврилова С.А. Влияние стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета на морфологию роговицы и сетчатки у крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(3): 42-47.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.42-47

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Гаврилова С.А.; сбор материала – Ржавина Е.М., Морозова М.П., Ердяков А.К., Панов А.А.; анализ и интерпретация данных – Панов А.А., Ржавина Е.М., Ердяков А.К.; статистическая обработка данных – Панов А.А., Ржавина Е.М., Ердяков А.К.; подготовка иллюстративного материала – Панов А.А.; написание текста – Панов А.А., Ердяков А.К., Гаврилова С.А., редактирование текста – Ердяков А.К., Гаврилова С.А.; обсуждение окончательной версии статьи – Панов А.А., Ердяков А.К., Гаврилова С.А.

Для корреспонденции: Гаврилова Светлана Анатольевна, e-mail: sgavrilova@mail.ru

Финансирование. Работа поддержана грантом РФФИ 16-15-10365 «Нейрогуморальная регуляция репарации тканей при сахарном диабете».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 28.05.2021

Принята к печати 30.06.2021

Опубликована 30.09.2021

Panov A.A., Rzhavina E.M., Morozova M.P., Erdiakov A.K., Gavrilova S.A.

Effect of long-term hyperglycemia on cornea and retina morphology in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus

M.V. Lomonosov Moscow State University,
Lomonosovsky Prospekt 27, Bld. 1, Moscow 119991, Russian Federation

The aim was to study morphological changes in the cornea and the posterior part of rat eye during prolonged hyperglycemia.

Methods. The study was performed on 36 Wistar male rats. Diabetes mellitus was induced by an injection of streptozotocin (65 mg/kg, i.p.) followed by daily injections of low doses of insulin (2 U/kg, s.c.). Eyes were enucleated from deeply anesthetized rats on days 50, 58, and 66 of the experiment. Histologic sections were stained with hematoxylin-eosin, and morphometry of the cornea and the retina was performed.

Results. Mean blood concentrations of glucose and ketone bodies were 29.8 mmol/L and 0.889 mmol/L, respectively, in the diabetic group and 6.2 mmol/L and 0.847 mmol/L, respectively, in the control group. The histological analysis revealed signs of edema

in the cornea, choroid and outer layers of the central retina, which preceded other morphological changes.

Conclusion. Evaluating thickness of the cornea, choroid and outer layers of the central retina may serve for prediction of diabetic retinopathy.

Keywords: hyperglycemia; diabetes mellitus; diabetic retinopathy; cornea; choroid; retina

For citation: Panov A.A., Rzhavina E.M., Morozova M.P., Erdiakov A.K., Gavrilova S.A. Features of the morphology of the cornea and retina in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(3): 42-47.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.42-47

Contribution: concept and design of the study – Gavrilova S.A.; collection of material – Rzhavina E.M., Morozova M.P., Erdiakov A.K., Panov A.A.; data analysis and interpretation – Panov A.A., Rzhavina E.M., Erdiakov A.K.; statistical analysis – Panov A.A., Rzhavina E.M., Erdiakov A.K.; preparation of illustrative material – Panov A.A.; text writing – Panov A.A., Erdiakov A.K., Gavrilova S.A.; text editing – Erdiakov A.K., Gavrilova S.A.; critique of the final version of the manuscript – Panov A.A., Erdiakov A.K., Gavrilova S.A.

For correspondence: Svetlana A. Gavrilova, Doctor of Biological Sciences, Associate Prof., Department of Physiology and General Pathology, Faculty of Medicine, Lomonosov Moscow State University, e-mail: sgavrilova@mail.ru

Financing. Grant RSF 16-15-10365 "Neurohumoral regulation of tissue repair in diabetes mellitus".

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

Information about the authors:

Morozova M.P., <https://orcid.org/0000-0002-7829-4753>

Erdiakov A.K., <https://orcid.org/0000-0002-2208-5733>

Gavrilova S.A., <https://orcid.org/0000-0002-8776-6062>

Received: 28.05.2021

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

Введение

Диабетическая ретинопатия – распространенное микрососудистое осложнение сахарного диабета (СД), которое является ведущей причиной потери зрения в развитых странах [1]. Для диагностики этого заболевания у людей проводят обследование глазного дна и сосудов сетчатки с помощью фундоскопии, оптической когерентной томографии и ангиографии [2]. Выраженность изменений коррелирует с длительностью СД [3], однако нередко тяжелая ретинопатия с необратимыми изменениями выявляется у пациентов с недавно диагностированным СД уже при первом скрининге [4]. В связи с этим, актуальным является изучение влияния стойкой гипергликемии на патологические изменения в органе зрения на различных животных моделях, а также определение механизмов и динамики развития повреждения сетчатки и роговицы при СД. Выявление ранних морфологических изменений, развивающихся на фоне гипергликемии, поможет выявить предикторы развития диабетической ретинопатии. В связи с этим, целью работы стало изучение динамики морфологических изменений, происходящих в заднем отрезке глаза и роговице при длительной гипергликемии в стрептозотцин-индуцированной модели СД у крыс.

Методика

Животных содержали в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабора-

торными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». На проведение опытов получено разрешение комиссии по биоэтике факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова: №БМЭ-12-17/-03 от 19.09.2017.

Исследование выполнено на 36 самцах крыс Wistar массой 400–450 г. Животных содержали в условиях вивария в режиме 12 ч день/12 ч ночь, со свободным доступом к воде и корму (комбикорм для разведения грызунов, ООО «Лабораторкорм»). Крысы были рандомизированы на 3 группы: СД (сахарный диабет) ($n=18$) – внутрибрюшинная инъекция раствора стрептозотцина (65 мг/кг) в цитратном буфере 5 мМ (рН 4,5) для моделирования сахарного диабета; ЦБ (цитратный буфер) ($n=14$) – внутрибрюшинная инъекция цитратного буфера 5 мМ (рН 4,5), растворителя стрептозотцина; ИК ($n=4$) – интактный контроль (без воздействий). Через трое суток после соответствующих инъекций у всех крыс определяли уровень глюкозы в капиллярной крови и из эксперимента исключали животных из группы СД с концентрацией глюкозы менее 15 мМ. Этот день считали 1-м днем эксперимента. Для увеличения выживаемости крысам группы СД каждое утро выполняли инъекцию инсулина (2 ЕД/кг) подкожно. Всех крыс ежедневно взвешивали, раз в неделю измеряли концентрацию глюкозы (глюкометры OneTouch Verio, Johnson&Johnson– для групп ЦБ, ИК и iCheck,

Diamedical — для группы СД) и кетоновых тел (кетометр Optium Xceed, Abbott) в капиллярной крови из кончика хвоста. Прокол выполняли скарификатором, депривацию воды и корма не проводили.

Энуклеацию глаз выполняли у глубоко наркотизированных хлоралгидратом крыс на 50-е, 58-е и 66-е сут эксперимента с учетом особенностей развития диабета у крыс. Затем добавляли наркоз до остановки сердца. Глаза помещали в фиксатор Дэвидсона на 16 ч и после стандартных принятых в гистологии процедур заливали в парафин. Глаз при процедуре заливки ориентировали в блоке так, чтобы срезы проходили через задний полюс и роговицу параллельно продольной оси глаза (рис. 1). Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином. Морфометрию осуществляли на срезе в двух зонах: вблизи продольной оси глаза (центр) и ближе к цилиарному телу (периферия) (рис. 1).

Морфологический анализ проводили с помощью светового микроскопа Zeiss Axio Imager A2. Общую морфологию оценивали при ув. 200. В роговице изучали прилегание клеток переднего эпителия друг к другу, оценивали прямолинейный или волнообразный ход десцеметовой мембраны, в заднем отрезке глаза — наличие мягких экссудатов (зон локальных утолщений слоя ганглиозных клеток и нервных волокон) и твердых экссудатов (массивных скоплений эозинфильного материала в плексиформных слоях), отмечали также наличие кровоизлияний, новообразованных сосудов и эпиретинальных мембран. Морфометрию проводили при ув. 400. Расчеты выполняли в программе ZeissZEN 2.6 blue edition (CarlZeiss Microscopy GmbH, Германия). В роговице измеряли толщину слоев: переднего эпителия, боуменовой мембраны, стромы, десцеметовой мембраны и эндотелия роговицы; в заднем отрезке глаза — толщину слоев: нервных волокон

и ганглиозных клеток, внутреннего плексиформного, внутреннего ядерного, наружного плексиформного, наружного ядерного, слоя фоторецепторов, пигментного эпителия, хориоидеи — а также подсчитывали количество рядов ядер в наружном ядерном слое и слое ганглиозных клеток.

Статистический анализ выполняли в программе STATISTICA 8.0. Нормальность распределения оценивали с помощью критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни для оценки межгрупповых различий, критерий Вилкоксона для сравнения показателей внутри одной группы в разные периоды времени и критерий Краскела-Уоллиса для анализа динамики изменения показателей. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. При сравнении групп ЦБ и ИК по всем показателям не выявлено статистически значимых различий, поэтому при анализе эти группы были объединены в одну контрольную (К). Данные представлены в виде медианы, первого и третьего квартиля — Me (Q1; Q3) или среднего \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$).

Результаты и обсуждение

Инсулинотерапия крыс в группе СД в дозе 2 ЕД/кг не снижала высокую концентрацию глюкозы в крови, но предотвращала гибель животных. В группе СД с 1-х сут эксперимента наблюдали статистически значимое увеличение среднего уровня глюкозы крови (СД $29,8 \pm 12,7$ мМ, по сравнению с контролем (К группа) $6,2 \pm 1,4$ мМ, $p < 0,0005$). С 35-х сут отмечалось статистически значимое ($p < 0,0001$) снижение средней массы тела, составившее к 66-м сут в группе СД $20,7 \pm 9,6\%$ по сравнению с массой в

1-е сут эксперимента. В группе К масса тела крыс в течение эксперимента статистически значимо не изменилась. Уровень кетоновых тел в группе СД не изменился (СД $0,889 \pm 0,541$ мМ, по сравнению с К $0,847 \pm 0,217$ мМ, $p = 0,46$). Таким образом, в эксперименте получена модель гипергликемии без кетоацидоза.

При световой микроскопии срезов роговицы в группе СД выявлены качественные морфологические изменения: неплотное прилегание эпителиальных клеток друг к другу (рис. 2, Б), в некоторых случаях с формированием значительных эпителиальных дефектов (рис. 2, В), причем данные изменения в группе К не обнаружены. (рис. 2, А). В группе СД на всех сроках наблюдения отмечалась волнообразная складчатость десцеметовой мембраны (рис. 2, В), в группе К подобные изменения отсутствовали.

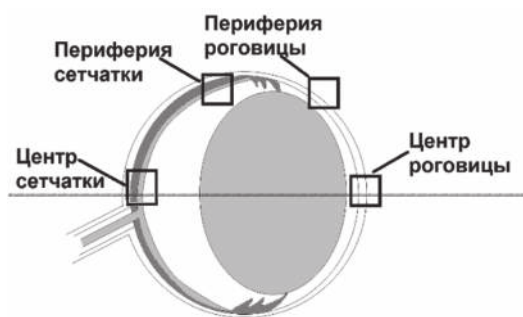


Рис. 1. Зоны измерения показателей на гистологических срезах глаз крыс. Серой прямой обозначена продольная ось глазного яблока.

Fig. 1. Zones of measurement on histological sections of rat eyes. The gray line marks the longitudinal axis of the eyeball.

Выявлены также количественные изменения морфометрических параметров роговицы в группе СД: обнаружено статистически значимое увеличение общей толщины роговицы и толщины ее стромы в центре и на периферии, утолщение десцеметовой мембраны и эндотелия роговицы в центре по сравнению с группой К (табл. 1).

По данным Samegon и соавторов (2001), существует положительная корреляция между концентрациями глюкозы в водянистой влаге и в плазме [5]. Избыток глюкозы приводит к повреждению клеток эндотелия роговицы, которые в норме обеспечивают дегидратацию ее стромы [6]. Из-за снижения насосной функции эндотелия происходит отек роговицы, что проявляется в увеличении толщины ее стромы, складчатости десцеметовой мембраны [7] и не-

плотном прилегании клеток переднего эпителия друг к другу [8]. Это согласуется с результатами нашего эксперимента.

При анализе срезов заднего отрезка глаза не выявлено качественных морфологических различий между группами СД и К: в обеих группах мягкие и твердые эксудаты, кровоизлияния, патологические новообразованные сосуды, эпиретинальные мембраны не обнаружены (рис. 3).

Количественные различия показателей между двумя группами включали статистически значимое увеличение толщины хориоидеи: в центре в 1,26 раз, на периферии в 1,58 раз. Толщина наружных слоев в центре сетчатки у крыс группы СД увеличилась в 1,16 раз. Также в группе СД отмечена тенденция к увеличению общей толщины сетчатки в центре (табл. 2).

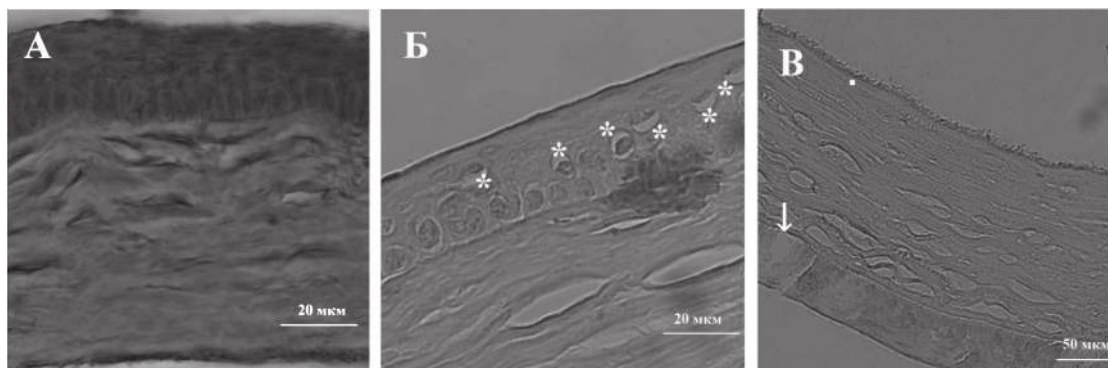


Рис. 2. Морфологические изменения эпителия роговицы, окраска гематоксилин-эозином. А. Группа К, ув. 400. Межклеточный отек отсутствует, эпителиальные клетки плотно прилегают друг к другу. Б. Группа СД, ув. 400. * – неплотное прилегание клеток эпителия роговицы друг к другу. В. Роговица крысы из группы СД, ув. 200. □ – умеренно выраженная волнообразная складчатость десцеметовой мембраны и эндотелия роговицы. ↓ – дефекты в переднем эпителии роговицы.

Fig. 2. Morphological changes in the corneal epithelium stained with hematoxylin-eosin. A. Control group, magnification 400x. Intercellular edema is absent, epithelial cells are tightly adjacent to each other. B. Group with diabetes mellitus (DM), magnification 400x. *loose fit of corneal epithelial cells to each other. C. The cornea of a rat from the DM group, magnification 200x. □ moderately pronounced wavy folding of the Descemet's membrane and the corneal endothelium. ↓ defects in the anterior corneal epithelium.

Таблица 1/Table 1

Изменение толщины роговицы и отдельных ее слоев в группе СД по сравнению с контрольной группой

Changes in the thickness of the cornea and its individual layers in the DM group in comparison with the control group

Показатель	Сахарный диабет, мкм	Контроль, мкм	p
Общая толщина роговицы в центре	150,5 (130,4; 187,3)	125,1 (103,3; 149,1)	0,0018
Общая толщина роговицы на периферии	158,7 (139,6; 170,3)	120,6 (91,4; 144,2)	0,00007
Толщина стромы в центре	104,3 (80,9; 138,1)	77,2 (63,2; 106,3)	0,003
Толщина стромы на периферии	119 (95,7; 132,6)	82,6 (60,8; 96,3)	0,00003
Толщина десцеметовой мембраны и эндотелия роговицы в центре	6,7 (4,6; 9,7)	4,9 (3,6; 6,3)	0,006

Примечание. Различия в показателях толщины других слоев роговицы не были статистически значимы.

Note. Differences in the thickness of other corneal layers were not statistically significant.

Анализ динамики изменения показателей в группе СД не выявил значимых различий между сроками развития СД, что говорит о том, что вышеописанные изменения появились раньше, до 50-х сут эксперимента.

Так, по данным Joussem и соавторов (2002), при гипергликемии лейкоциты имеют повышенную экспрессию CD18 – рецептора для молекулы клеточной адгезии ICAM-1 [9]. При этом в эндотелии хориоидеи увеличивается экспрессия ICAM-1 [10]. В результате лейкоциты «застревают» в просвете сосудов хориоидеи и повреждают эндотелиоциты активными формами кислорода АФК [10]. Это приводит к гибели клеток эндотелия, увеличению сосудистой проницаемости и отеку хориоидеи [11]. Лейкостаз в сосудах при гипергликемии развивается уже через одну неделю после индукции СД [11]

и сохраняется длительное время [12]. Увеличение толщины наружных слоев сетчатки в центре можно объяснить распространением отека с хориоидеи на эти слои.

Заключение

Таким образом, в полученной модели изолированной гипергликемии (без кетоацидоза) при стрептозотоцин-индуцированном СД обнаружены признаки отека роговицы, хориоидеи и наружных слоев центральных отделов сетчатки в группе СД, которые развиваются на ранних сроках эксперимента (еще до 50-х сут), но в остальном морфология сетчатки в группе СД на всех исследуемых сроках не отличалась от таковой в группе К. Вероятно, в условиях длительной гипергликемии эти изменения являются наиболее ранними, поэтому измерение толщины выше-

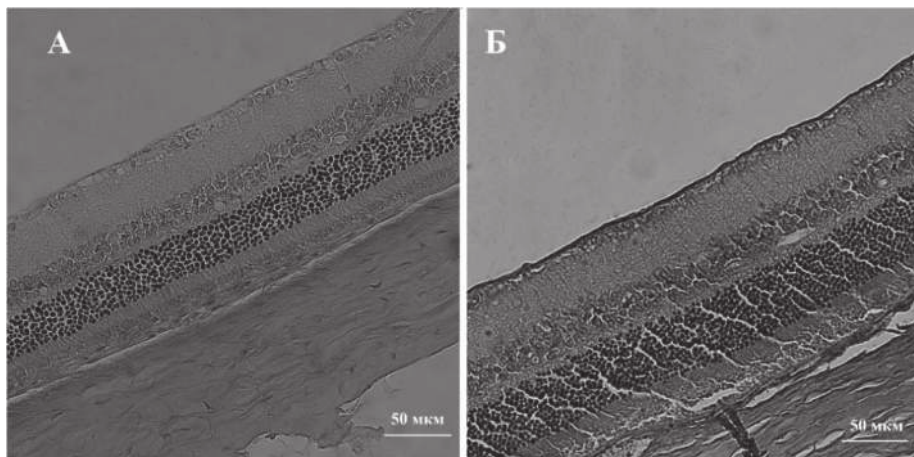


Рис. 3. Общий вид гистологических срезов сетчатки крыс (центральная часть), окраска гематоксилин-эозином, ув. 200. А. Группа К. Б. Группа СД. Отмечается утолщение наружных слоев сетчатки по сравнению с контролем.

Fig. 3. General view of histological sections of the rat retina (central part) stained with hematoxylin-eosin, magnification x200. А. Control group. В. DM group. Outer layers of the retina are thickened compared to the control group.

Таблица 2/ Table 2

Изменения показателей заднего отрезка глаза в группе СД по сравнению с контрольной группой

Changes in the parameters of the posterior segment of the eye in the DM group as compared with the control group

Показатель	Сахарный диабет, мкм	Контроль, мкм	p
Толщина хориоидеи в центре	23,6 (18,5; 31,5)	18,7 (14,6; 24,6)	0,019
Толщина хориоидеи на периферии	19 (13,4; 23,5)	12 (9,3; 15,9)	0,0003
Толщина наружных слоев сетчатки	85,8 (65,6; 97,3)	73,7 (60,9; 80,7)	0,049
Общая толщина сетчатки в центре	144,7 (110,2; 166,2)	116,6 (99,1; 132)	0,064

Примечание. Различия в показателях толщины других слоев сетчатки, а также в количестве рядов ядер в наружном ядерном слое и слое ганглиозных клеток между двумя группами не были статистически значимы.

Note. Differences in thickness of other retinal layers and in the number of rows of nuclei in the outer nuclear layer and the ganglionic cell layer between the groups were not statistically significant.

указанных зон может служить предиктором развития диабетической ретинопатии. Целесообразно проведение повторной серии экспериментов с изучением развития диабетической ретинопатии у крыс на более ранних сроках (до 50-х сут).

Литература/References

- Hendrick A.M., Gibson M.V., Kulshreshtha A. Diabetic Retinopathy. *Prim. Care*. 2015; 42(3): 451-64. doi: 10.1016/j.pop.2015.05.005
- Safi H., Safi S., Hafezi-moghadam A., Ahmadi H. Early detection of diabetic retinopathy. *Surv. Ophthalmol.* 2018; 63(5): 601-8. doi: 10.1016/j.survophthal.2018.04.003
- Correa Z.M., Freitas A.M., Marcon I.M. Risk factors related to the severity of diabetic retinopathy. *Arq. Bras. Oftalmol.* 2003; 66(6): 739-43. doi: 10.1590/S0004-27492003000700002
- Hammes H.P. Diabetic retinopathy: hyperglycaemia, oxidative stress and beyond. *Diabetologia*. 2018; 61(1): 29-38. doi: 10.1007/s00125-017-4435-8
- Cameron B.D., Baba J.S., Coté G.L. Measurement of the glucose transport time delay between the blood and aqueous humor of the eye for the eventual development of a noninvasive glucose sensor. *Diabetes Technol. Ther.* 2001; 3(2): 201-7. doi: 10.1089/152091501300209552
- Zhao H., He Y., Ren Y.R., Chen B.H. Corneal alteration and pathogenesis in diabetes mellitus. *Int. J. Ophthalmol.* 2019; 12(12): 1939-50. doi: 10.18240/ijo.2019.12.17
- Delmonte D.W., Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. *J. Cataract. Refract. Surg.* 2011; 37(3): 588-98. doi: 10.1016/j.jcrs.2010.12.037
- Edelhauser H.F. The Balance between Corneal Transparency and Edema: The Proctor Lecture. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2006; 47(5): 1755-67. doi: 10.1167/iovs.05-1139
- Joussen A.M., Poulaki V., Mitsiades N., Kirchhof B., Koizumi K., Döhmen S., et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs prevent early diabetic retinopathy via TNF-alpha suppression. *FASEB J.* 2002; 16(3): 438-40. doi: 10.1096/fj.01-0707fje
- Lutty G.A. Effects of Diabetes on the Eye. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2013; 54(14): 81-7. doi: 10.1167/iovs.13-12979
- Joussen A.M., Murata T., Tsujikawa A., Kirchhof B. Leukocyte-Mediated Endothelial Cell Injury and Death in the Diabetic Retina. *Am. J. Pathol.* 2001; 158(1): 147-52. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63952-1
- Joussen A.M., Poulaki V., Le M.L., Koizumi K., Esser C., Janicki H., et al. A central role for inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *FASEB J.* 2004; 18(12): 1450-2. doi: 10.1096/fj.03-1476fje

Сведения об авторах:

Панов Андрей Алексеевич, студент факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова;

Ржавина Екатерина Михайловна, канд. биол. наук, науч. сотр. факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова;

Морозова Мария Павловна, канд. биол. наук, доцент каф. физиологии и общей патологии факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова;

Ердяков Алексей Константинович, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. Межфакультетской научно-исследовательской лаборатории трансляционной медицины факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова;

Гаврилова Светлана Анатольевна, доктор биол. наук, доцент каф. физиологии и общей патологии факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, e-mail: sgavrilova@mail.ru

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-092.19

Маклакова И.Ю.^{1,2}, Цвиренко С.В.¹, Базарный В.В.¹, Гребнев Д.Ю.¹

Влияние сочетанной трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток и звездчатых клеток печени на морфофункциональное состояние печени после введения CCl₄

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России,

620028, Екатеринбург, Россия, ул. Репина, д. 3;

²ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,

620026, Екатеринбург, Россия, ул. Карла Маркса, д. 22 А

Цель исследования – изучение влияния сочетанной трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных и звездчатых клеток печени на морфофункциональное состояние печени после ее токсического повреждения, вызванного введением CCl₄.

Задачи исследования:

1. Оценка морфометрических показателей печени после сочетанного введения мультипотентных мезенхимальных стромальных (ММСК) и звездчатых клеток печени (ЗКП) при токсическом повреждении печени CCl₄.

2. Изучение влияния котрансплантации ММСК и ЗКП на биохимические показатели крови при токсическом повреждении печени CCl₄.

3. Исследование активности системы репарации ДНК после введения ММСК и ЗКП при токсическом повреждении печени CCl₄.

Методика. Эксперименты выполнены на 63 белых лабораторных мышах-самцах в возрасте 7-8 мес. Токсический гепатит воспроизводили у всех животных внутрибрюшинным введением CCl₄ (50 мкл/мышь), затем из них формировали опытную и контрольную группы. Животным опытной группы в латеральную хвостовую вену вводили суспендированные в 0,2 мл 0,9 % раствора NaCl ММСК, полученные из хориона плаценты мышей-самок (4 млн клеток/кг, 120 тыс клеток/мышь), и ЗКП – 9 млн клеток/кг (270 тыс клеток/мышь). Животным контрольной группы вводили в латеральную хвостовую вену 0,2 мл 0,9 % раствора NaCl. Внутривенные инъекции осуществляли однократно через 1 ч после введения CCl₄. Использовали ММСК 3-го пассажа. Трансплантированные ЗКП не подвергались культивированию. Исследовали влияние сочетанной трансплантации ММСК и ЗКП на морфофункциональное состояние печени на 1-е, 3-и, 7-е сут после введения CCl₄.

Результаты. Сочетанная трансплантация мультипотентных мезенхимальных стромальных и звездчатых клеток печени при токсическом поражении печени приводит к повышению митотической активности гепатоцитов, увеличению числа двуядерных гепатоцитов, повышению ядерно-цитоплазматического отношения. Введение стволовых клеток способствует снижению запрограммированной клеточной гибели гепатоцитов за счет повышения активности ферментов репарации семейства PARP.

Заключение. Сочетанная трансплантация ММСК и ЗКП положительно влияет на морфофункциональное состояние печени в условиях ее токсического повреждения. Значимым механизмом восстановления морфофункционального состояния печени можно считать влияние трансплантируемых ММСК и ЗКП на систему репарации клеток.

Ключевые слова: токсическое повреждение печени; мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки; звездчатые клетки печени; апоптоз; морфофункциональное состояние печени

Для цитирования: Маклакова И.Ю., Цвиренко С.В., Базарный В.В., Гребнев Д.Ю. Влияние сочетанной трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток и звездчатых клеток печени на морфофункциональное состояние печени в условиях ее токсического повреждения *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2021; 65(3): 48-55.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.48-55

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Базарный В.В., Маклакова И.Ю., Цвиренко С.В.; сбор и обработка материала – Маклакова И.Ю., Гребнев Д.Ю.; подготовка иллюстративного материала – Базарный В.В., Маклакова И.Ю.; статистическая обработка – Маклакова И.Ю., Гребнев Д.Ю.; написание текста – Маклакова И.Ю., Цвиренко С.В.; редактирование – Цвиренко С.В., Гребнев Д.Ю.

Для корреспонденции: Маклакова Ирина Юрьевна, e-mail: makliu@mail.ru

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания «Разработка технологии использования сочетанной трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток и звездчатых клеток печени для активации регенерации печени в условиях ее повреждения», номер регистрации 121032500021-1 от 25.03.2021 г.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 09.09.2020

Принята к печати 30.06.2021

Опубликована 30.09.2021

Maklakova I.Yu.^{1,2}, Tsvirenko S.V.¹, Bazarnyi V.V.¹, Grebnev D.Yu.¹

Effect of combined transplantation of multipotent mesenchymal stromal cells and stellate liver cells on the morpho-functional state of the liver after administration of CCL₄

¹Ural State Medical University,

Repin St. 3, Ekaterinburg 620028, Russian Federation;

²Institute of Medical Cell Technologies,

Karla Marksa St. 22 A, Ekaterinburg 620026, Russian Federation

The aim of this study was to investigate the effect of combined transplantation of multipotent mesenchymal stromal and stellate liver cells on the morphofunctional state of the liver after toxic damage caused by carbon tetrachloride.

Objectives of the study:

1. To evaluate changes in liver morphometric parameters after combined administration of multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC) and hepatic stellate cells (HSC) in toxic liver damage.
2. To study the effect of cotransplantation of MMSC and HSC on changes in blood biochemical parameters in toxic liver damage.
3. To investigate the activity of the DNA repair system after the introduction of MMSC and HSC in toxic liver damage.

Methods. The experiments were performed on 63 white laboratory male mice aged 7-8 mos. Toxic hepatitis was caused by intraperitoneal administration of carbon tetrachloride (CCl₄) at a dose of 50 µl/mouse. The mice were divided into experimental and control groups. Animals of the experimental group were injected into the lateral caudal vein with MMSCs obtained from the chorion of the placenta of female mice and with HCP at doses of 4 million cells/kg (120 thousand cells/mouse) and 9 million cells/kg (270 thousand cells/mouse), respectively, suspended in 0.2 ml of 0.9% NaCl solution. Animals of the control group were injected with 0.2 ml 0.9 % NaCl into the lateral caudal vein. Intravenous injections were performed 1 hr after the administration of carbon tetrachloride. Rats were administered with MMSCs of the third passage. Transplanted HSC had not been subjected to cultivation. The effect of combined MMSC and HSC transplantation on the morpho-functional state of the liver was studied on the 1st, 3rd, and 7th days after administration of carbon tetrachloride.

Results. The combined transplantation of multipotent mesenchymal stromal and hepatic stellate cells leads to an increase in the mitotic activity of hepatocytes, an increase in the number of binuclear hepatocytes, and an increase in the nuclear-cytoplasmic ratio. Administration of stem cells helps to reduce the programmed cell death of hepatocytes by increasing the activity of repair enzymes of the PARP family.

Conclusion. Combined transplantation of MMSC and hepatic stellate cells (HSC) has a positive effect on the morphofunctional state of the liver in conditions of its toxic damage. A significant mechanism for the restoration of the morphological and functional state liver, the effect of transplanted MMSC and HSC on the cell repair system can be considered.

Keyword: toxic liver damage; multipotent mesenchymal stromal cells; hepatic stellate cells; morpho-functional state of the liver; apoptosis

For citation: Maklakova I.Yu., Tsvirenko S.V., Bazarnyi V.V., Grebnev D.Yu. Effect of combined transplantation of multipotent mesenchymal stromal cells and stellate liver cells on the morpho-functional state of the liver after administration of CCL₄. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(3): 48-55. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.48-55

Contribution: research concept and design – Bazarnyi V.V., Maklakova I.Yu., Tsvirenko S.V.; collection and processing of the material – Maklakova I.Yu., Grebnev D.Yu.; illustrative material – Bazarnyi V.V., Maklakova I.Yu.; statistical processing – Maklakova I.Yu., Grebnev D.Yu.; writing the text – Maklakova I.Yu., Tsvirenko S.V.; editing – Tsvirenko S.V., Grebnev D.Yu.

For correspondence: **Maklakova Irina Yurevna** (associate Professor of pathological physiology of the USMU is conducted by the Ministry of health of Russia, senior researcher «Institute of medical cell technologies», laboratory of anti-aging technology), e-mail: makliu@mail.ru

Financing. The study was carried out with the financial support of the state task "Development of a technology for using combined transplantation of multipotent mesenchymal stromal cells and stellate liver cells to activate liver regeneration in conditions of its damage", registration number 121032500021-1 dated 25.03.2021.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest. The materials of the article have not been published anywhere before.

Information about the authors:

Bazarnyi V.V., <https://orcid.org/0000-0003-0966-9571>

Grebnev D.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-5698-8404>

Received: 09.09.2020

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

Введение

Поиск путей активации регенеративных процессов в печени в условиях ее повреждения является актуальной проблемой. Одним из инструментов при этом может быть использование биомедицинских клеточных продуктов. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) являются самообновляющимися клетками, которые можно найти практически во всех постнатальных органах и тканях, включая печень. За последнее десятилетие был достигнут большой прогресс в области ММСК-зависимой регенерации и иммуномодуляции печени [1, 2]. Учитывая их способность к выработке биологически активных веществ, а также их иммуномодулирующие характеристики, введение ММСК считается перспективным решением для терапии острой печеночной недостаточности [3-5]. В ранее проведенных исследованиях была показана возможность терапевтического воздействия трансплантации тимоцитов, ММСК на регенерацию печени [6]. Вместе с тем, в последние годы значительная роль в регенерации печени отводится звездчатым клеткам печени (ЗКП). Эти клетки формируют микроокружение для гепатоцитов, образуя коллаген IV, VI, XIV типов, гликопротеины, протеогликаны [7-9]. ЗКП способны вырабатывать митогены для гепатоцитов – HGF (Hepatocyte growth factor), SCF (stem cell factor) и др. [10, 11]. С другой стороны, ММСК также способны к выработке SCF, способствующего повышению пролиферативной активности ЗКП [1, 12]. Учитывая биологические особенности взаимодействия ММСК и ЗКП, представляется перспективным использовать сочетанную трансплантацию ММСК и ЗКП для активации регенерации печени в условиях ее токсического повреждения.

Цель исследования – изучение влияния сочетанной трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных и звездчатых клеток печени на морфофункциональное состояние печени после ее токсического повреждения, вызванного введением CCl_4 .

Методика

Эксперименты выполнены на 63 белых беспородных мышах-самцах возраст 7-8 мес, масса 25-27 г. Все эксперименты, уход и содержание животных осуществлялись в соответствии с Директивой № 63 от 22 сентября 2010 г. Президиума и Парламента Европы «О защите животных, используемых для научных исследований» и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики». Выполнение исследований одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Уральский госу-

дарственный медицинский университет» протокол № 8 от 20.10.2017.

Источником ММСК являлся хорион плаценты 5 лабораторных мышей-самок возраст 3–4 мес, срок гестации – 18 сут. Мононуклеарная фракция клеток была получена путем последовательной механической и ферментативной обработки (раствор аккутазы, Millipore, США) ткани плаценты. Выделение ЗКП осуществлялось методом коллагеназно-пропазовой перфузии печени с последующим разделением клеток в градиенте плотности гистоденза. Культивирование ММСК проводилось в условиях CO_2 – инкубатора (Termo Scientific, США) при температуре 37 °С с содержанием углекислого газа 5% и влажностью 90 %. Для трансплантации лабораторным животным были использованы ММСК третьего пассажа. Введение ЗКП проводилось сразу после выделения клеток.

Иммунофенотипирование суспензии ММСК было проведено методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител, конъюгированных с флуорохромами (Becton Dickinson, США). В фракции трансплантируемых клеток оценивалось содержание ММСК с иммунофенотипом положительных по CD105 (Rat IgG_{2A} Anti-Mouse Endoglin/CD105-Fluorescein Clone 209701, RTU), CD29 (Rat IgG_{2A} Anti-Mouse Integrin beta 1/CD29-PE Clone 265917), Sca-1 (Rat IgG_{2A} Anti-Mouse Sca-1-APC Clone 177228) и отрицательных по CD45 (Rat IgG_{2B} Anti-Mouse CD45-PerCP Clone 30-F11) (Becton Dickinson, США) на проточном цитометре Beckman Coulter Navios с помощью набора Mouse Mesenchymal Stem Cell Multi-Color Flow Cytometry Kit (Bio-Techne, США). Количество жизнеспособных клеток с фенотипом CD45-CD105+Sca1+CD29+ составило 93,5 %. Для оценки функциональных свойств ММСК производилась их дифференцировка в адипоцитарном и остеогенном направлениях. Состав среды, индуцирующей дифференцировку в остеогенном направлении: MesenCult™ Osteogenic Stimulatory Supplement («StemCell Technologies», Канада). Состав среды, индуцирующей дифференцировку в адипоцитарном направлении: MesenCult™ Adipogenic Stimulatory Supplement («StemCell Technologies», Канада) и MesenCult™ MSC Basal Medium («StemCell Technologies», Канада) в соотношении 1:4, 2 ммоль раствора L-глутамин («StemCell Technologies», Канада). Факт остеогенной дифференцировки подтвержден гистохимическим методом регистрации увеличения экспрессии щелочной фосфатазы, а также с помощью окраски von Kossa, выявляющей наличие минерализованного фосфата кальция. Способ-

ность клеток дифференцироваться в адипоцитарном направлении подтверждена гистохимическим методом регистрации липидных вакуолей, окрашивающихся красителем Oil Red O. Идентификация ЗКП была проведена на проточном цитометре путем оценки эндогенной ретиноидной флуоресценции ЗКП. Жизнеспособность клеток перед трансплантацией была определена с использованием красителя 7-AAD (7-Aminoactinomycin D) и составила 95 – 97 %.

Были выделены следующие группы: опытная, контрольная и группа сравнения. У животных опытной и контрольной групп воспроизводили токсическое повреждение печени путем однократного внутрибрюшинного введения CCl_4 (50 мкл/мышь). Животным опытной группы в латеральную хвостовую вену вводились суспендированные в 0,2 мл 0,9% раствора NaCl ММСК и ЗКП в дозе 4 млн клеток/кг (120 тыс. клеток/мышь) и 9 млн клеток/кг (270 тыс. клеток/мышь) соответственно. Животным контрольной группы в латеральную хвостовую вену вводили 0,2 мл 0,9 % раствора NaCl. Группу сравнения составили лабораторные мыши без токсического повреждения печени, которым вводился 0,9 % раствор NaCl – 0,2 мл. В каждой группе было по 7 животных. Производилась оценка биохимических показателей сыворотки крови и морфометрических показателей печени на 1-е, 3-и, 7-е сут после введения клеток.

Для оценки морфометрических показателей печени изготавливали гистологические срезы печени толщиной 3-5 мкм, окрашивали гематоксилином-эозином. Для морфометрического анализа данных использовали компьютерную программу анализа изображений (Biovision, Россия). Производилась оценка следующих морфометрических показателей печени: количество гепатоцитов на 1 мм^2 , площадь гепатоцитов, площадь ядра гепатоцита, площадь цитоплазмы гепатоцита, ядерно-цитоплазматический индекс, количество двуядерных гепатоцитов на 1 мм^2 , митотический индекс. Для оценки апоптоза использовался набор первичных (Caspase-3 Antibody (L-18) goat polyclonal IgG, 1:100) (Santa Cruz Biotech, США), и вторичных антител (donkey anti-goat IgG-FITC, 1:100) (Santa Cruz Biotech, США) на гистологических срезах по идентификации эффекторной каспазы-3. Уровень запрограммированной гибели гепатоцитов оценивали путем подсчета апоптотического индекса:

$$\text{Апоптотический индекс} = \frac{\text{Количество гепатоцитов в состоянии апоптоза}}{1000 \text{ подсчитанных гепатоцитов}} * 1000 \text{ \%}.$$

Для проведения микроядерного теста путем механической и ферментативной обработки (проназа Е,

коллагеназа I тип и ДНК-аза (Sigma)) была получена суспензия клеток печени, из которой были изготовлены цитологические мазки. Окраска производилась 2,5% ацетоорсеином с докрасиванием цитоплазмы клеток 1% спиртовым раствором светлого зеленого [13].

С целью оценки выраженности репаративных процессов в клетках печени производился анализ количества Поли-АДФ-рибозаполимера, который является продуктом реакции Поли-АДФ-рибозилирования. Определение уровня данного показателя осуществлялось в клетках печени с использованием первичных (Anti-Poly (ADP-Ribose) Polymer antibody, abcam) и вторичных антител (Rabbit Anti-Chicken IgY H&L (FITC)) на проточном цитометре Beckman Coulter Navios по методу A. Kunzmann, D. Lui, K. Annett [14] на 7-е сут после моделирования токсического повреждения печени. Определялась средняя интенсивность флуоресценции популяции клеток (MFI), которая служит количественным критерием, характеризующим экспрессию антигенов (плотность рецепторов) внутри клеток.

Биохимические показатели сыворотки крови определяли кинетическими методиками с использованием анализатора Chem Well 2910 (Combi) и реагентов «Ольвекс Диагностикум», Россия. Изучались следующие биохимические показатели: содержание альбумина, активность аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), и щелочной фосфатазы (ЩФ).

Исходные данные имели нормальное распределение. Для проверки нормальности распределения показателей был использован критерий Шапиро-Уилка. Статистическая значимость различий в сравниваемых выборках определялась с применением t-критерия Стьюдента. Данные представлены в виде среднего арифметического значения (M) и стандартным отклонением (SD). Статистическая обработка данных проведена с помощью программного пакета SPSS Statistics (версия 17,0).

Результаты и обсуждение

Морфофункциональное состояние печени оценивали в динамике на 1-е, 3-и, 7-е сут на основании комплекса биохимических и морфологических параметров.

Через 24 ч после введения CCl_4 в печени развивались признаки острого токсического гепатита, которые проявлялись очаговыми некрозами гепатоцитов с лимфо-лейкоцитарной инфильтрацией. Отмечалась вакуольная дистрофия гепатоцитов, полнокровие сосудов, капилляростаз.

Через 24 ч после введения CCl_4 выявлены признаки активации запрограммированной клеточной гибели, а также увеличение количества цитогенетически измененных клеток (табл. 1). Эти изменения могут быть обусловлены метаболизмом CCl_4 , который подвергается действию митохондриальных оксидаз с последующим образованием свободных радикалов ($CCl_3\cdot$ и $Cl\cdot$). Это приводит к активации перекисного окисления липидов, и повреждению клеточных структур. В очаг повреждения мигрируют лейкоциты, которые синтезируют провоспалительные факторы. Повышение уровня провоспалительных цитокинов (TRAIL-TNF-related apoptosis-inducing ligand,

TNF- α) приводит к активации внешнего пути реализации апоптоза (через рецепторы клеточной гибели). Образующиеся свободные радикалы повреждают структуры ДНК, вследствие чего увеличивается количество патологических митозов и, как результат, повышается уровень цитогенетически измененных клеток.

Также на 1-е сут после введения CCl_4 отмечается повышение митотического индекса, увеличивается количество двуядерных гепатоцитов. Увеличение количества двуядерных гепатоцитов можно объяснить тем, что в ранние сроки репаративной регенерации значительная часть митозов является ацитокинетическими [7]. При сравнении опытной и контрольной групп мышей на 1-е сут после моделирования токсического повреждения печени статистически значимых различий не выявлено (табл. 1).

На 3-и и 7-е сут после введения CCl_4 у лабораторных животных, которым вводили ММСК и ЗКП обнаружено снижение признаков запрограммированной клеточной гибели, уменьшение количества цитогенетически измененных клеток, отмечается повышение митотической активности. Кроме этого, установлено повышение количества двуядерных клеток, увеличение площади ядер гепатоцитов, что привело к повышению ядерно-цитоплазматического индекса (табл. 2 и 3).

На 7-е сут после моделирования токсического повреждения печени, вызванного введением CCl_4 обнаружено статистически значимое повышение количества поли(АДФ-рибоза)-полимера в клетках печени (табл. 3).

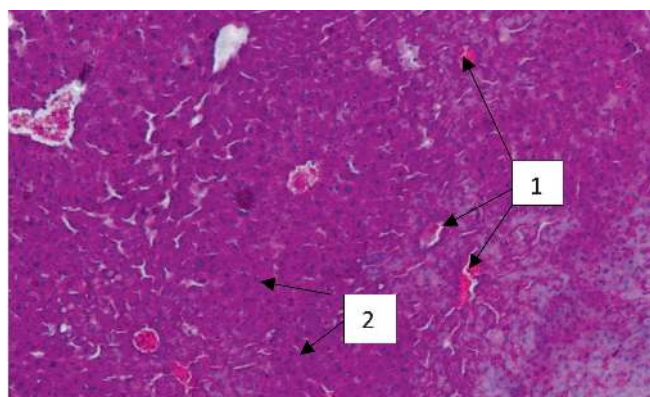


Рис. Ступенчатые некрозы гепатоцитов. 1 – полнокровие сосудов, 2 – некрозы гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200.

Fig. Stepwise necroses of hepatocytes. 1 – vascular hyperemia, 2 – hepatocyte necrosis. Hematoxylin end eosin staining. Magnification: x 200.

Таблица 1/ Table 1

Морфометрические показатели печени на 1-е сут после введения CCl_4 , (M \pm SD, n=7)

Morphometric parameters of the liver on the first day after CCl_4 administration, (Mean \pm SD, n=7)

Показатели	Группы		
	NaCl (группа сравнения)	CCl_4 +NaCl (контрольная группа)	CCl_4 +ММСК+ЗКП (опытная группа)
Апоптотический индекс, ‰	0,41 \pm 0,06	4,87 \pm 0,39**	4,76 \pm 0,38*
Количество гепатоцитов с микроядрами, ‰	2,20 \pm 0,20	153,8 \pm 15,8*	142,3 \pm 14,9*
Митотический индекс, ‰	0,48 \pm 0,12	17,74 \pm 1,92*	18,33 \pm 1,46*
Количество двуядерных гепатоцитов на мм ²	233,43 \pm 14,6	530,43 \pm 52,94*	518,29 \pm 51,22*
Количество двуядерных гепатоцитов, %	14,9 \pm 1,40	25,74 \pm 2,38*	24,48 \pm 2,34*
Количество гепатоцитов на 1 мм ²	1567,57 \pm 113,20	2060,71 \pm 148,60*	2117,14 \pm 193,04*
Площадь гепатоцитов, мкм ²	264,90 \pm 15,80	186,43 \pm 13,52*	194,01 \pm 18,86*
Площадь ядра гепатоцитов, мкм ²	50,57 \pm 4,50	53,60 \pm 4,07	56,50 \pm 5,12
Площадь цитоплазмы гепатоцитов, мкм ²	214,33 \pm 13,42	132,83 \pm 12,26*	137,51 \pm 12,93*
Ядерно-цитоплазматический индекс	0,24 \pm 0,03	0,41 \pm 0,04*	0,41 \pm 0,03*

Примечание. * p <0,05 – значимость различий с показателями группы сравнения.

Note. * p <0.05 – the significance of differences with the indicators of the comparison group.

При анализе биохимических показателей сыворотки крови, установлено, что на 1-е сут после введения CCl_4 отмечается повышение активности ферментов АСТ, АЛТ (синдром цитолиза) и, в результате сдавления экссудатом внутрипеченочных капилляров – ЩФ (синдром холестаза). Проведение в 1-е сут сочетанной трансплантации не привело к статистически значимым изменениям изучаемых показателей по сравнению с контрольной группой животных. На 3-и и 7-е сут отмечается снижение активности ферментов, ха-

рактеризующих цитолиз клеток – АСТ, АЛТ в опытной группе по сравнению с контрольной. На 7-е сут после моделирования токсического повреждения в группе животных с сочетанной трансплантацией ММСК и ЗКП помимо снижения активности АСТ, АЛТ выявлено восстановление содержания альбумина, снижение активности ЩФ по сравнению с контрольной группой (табл. 4).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что проведение сочетанной трансплан-

Таблица 2/Table 2

Морфометрические показатели печени на 3-и сут после введения CCl_4 , (M±SD, n = 7),**Morphometric parameters of the liver on the third day after CCl_4 administration, (Mean±SD, n=7)**

Показатели	Группы		
	NaCl (группа сравнения)	CCl_4 +NaCl (контрольная группа)	CCl_4 +ММСК+ЗКП (опытная группа)
Апоптотический индекс, ‰	0,43±0,04	3,70±0,39*	2,57±0,26***
Количество гепатоцитов с микроядрами, ‰	2,17±0,20	5,39±0,48*	3,81±0,33***
Митотический индекс, ‰	0,74±0,07	15,20±1,32*	20,47±1,86***
Количество двуядерных гепатоцитов на мм ²	234,43±12,84	474,43±49,28*	636,00±64,54***
Количество двуядерных гепатоцитов, %	15,37±1,49	24,93±2,34*	30,24±2,96*
Количество гепатоцитов на 1 мм ²	1525,57±128,31	1902,86±132,12*	2102,71±157,42*
Площадь гепатоцитов, мкм ²	267,54±10,81	205,03±20,27*	196,01±20,02*
Площадь ядра гепатоцитов, мкм ²	48,40±3,87	53,27±3,28	66,90±5,34***
Площадь цитоплазмы гепатоцитов, мкм ²	219,14±10,22	151,76±17,98*	129,11±15,95*
Ядерно-цитоплазматический индекс	0,22±0,02	0,35±0,03*	0,52±0,05***

Примечание. * $p < 0,05$ – значимость различий с показателями группы сравнения; ** $p < 0,05$ – с показателями контрольной группы.

Note. * $p < 0.05$ – the significance of differences with the indicators of the comparison group; ** $p < 0.05$ – with the indicators of the control group.

Таблица 3/Table 3

Показатели морфофункционального состояния печени на 7-е сут после введения CCl_4 , (M±SD, n=7)**Morphometric parameters of the liver on the 7th day after CCl_4 administration. Morphometric parameters of the liver on the third day after CCl_4 administration, (Mean±SD, n=7)**

Показатели	Группы		
	NaCl (группа сравнения)	CCl_4 + NaCl (контрольная группа)	CCl_4 +ММСК+ЗКП (опытная группа)
Апоптотический индекс, ‰	0,39±0,04	3,74±0,35*	2,70±0,32***
Количество гепатоцитов с микроядрами, ‰	2,10±0,19	5,46±0,48*	4,01±0,36***
Митотический индекс, ‰	0,73±0,07	17,06±1,68*	21,43±2,08***
Активность ферментов семейства PARP в клетках печени, MFI	45,2±4,3	91,3±9,4*	133,5±12,8***
Количество двуядерных гепатоцитов на мм ²	237,29±11,63	388,57±32,52*	505,29±58,87***
Количество двуядерных гепатоцитов, %	15,42±1,56	19,71±1,82	28,13±2,66***
Количество гепатоцитов на 1 мм ²	1538,14±112,28	1970,71±144,51*	1796,14±138,71
Площадь гепатоцитов, мкм ²	264,67±9,67	204,71±17,83*	235,60±20,54*
Площадь ядра гепатоцитов, мкм ²	50,46±3,57	60,94±4,93*	83,51±7,76***
Площадь цитоплазмы гепатоцитов, мкм ²	214,21±9,28	143,77±14,93*	158,73±14,26*
Ядерно-цитоплазматический индекс	0,24±0,02	0,43±0,04*	0,53±0,04***

Примечание. * $p < 0,05$ – значимость различий с показателями группы сравнения; ** $p < 0,05$ – с показателями контрольной группы.

Note. * $p < 0.05$ – the significance of differences with the indicators of the comparison group; ** $p < 0.05$ – with the indicators of the control group.

Таблица 4/ Table 4

Биохимические показатели крови лабораторных мышей, (M±SD, n = 7)

Blood biochemistry of laboratory mice, (mean±SD, n = 7)

Показатели		Группы		
		NaCl (группа сравнения)	NaCl (контрольная группа)	ММСК+ЗКП (опытная группа)
1 -е сутки	Альбумин, г/л	30,03±3,12	25,71±2,39	24,67±2,32
	АСТ, Ед/л	98,53±9,25	215,37±14,24 *	205,53±20,53*
	АЛТ, Ед/л	82,80±6,83	210,13±15,82 *	201,43±17,33*
	ЩФ, Ед/л	67,37±5,08	122,89±10,35*	116,34±11,93*
3 -и сутки	Альбумин, г/л	30,84±4,58	20,51±1,73*	22,39±2,29*
	АСТ, Ед/л	97,26±8,85	170,55±13,51*	126,08±11,84*.**
	АЛТ, Ед/л	81,13±8,93	166,46±12,24*	126,91±11,63*.**
	ЩФ, Ед/л	66,34±5,97	106,73±9,88*	93,28±9,83*
7-е сутки	Альбумин, г/л	31,41±3,57	22,74±2,02*	28,75±2,63**
	АСТ, Ед/л	104,56±9,95	138,45±10,53 *	99,46±7,15**
	АЛТ, Ед/л	89,23±6,34	154,50±11,17 *	115,03±10,76*.**
	ЩФ, Ед/л	63,30±5,24	91,20±8,37*	69,65±6,85**

Примечание. *p<0,05 – значимость различий с показателями группы сравнения; **p<0,05 – с показателями контрольной группы.

Note. *p<0.05 – the significance of differences with the indicators of the comparison group; **p<0.05-with the indicators of the control group.

тации ММСК и ЗКП способствует активации репаративной регенерации в печени при ее токсическом повреждении. Наблюдается активация клеточной регенерации за счет повышения митотической активности и ингибирования запрограммированной клеточной гибели.

Ферменты семейства PARP играют ключевую роль во многих фундаментальных биологических процессах, таких как репарация ДНК, регуляция клеточного цикла. Активация этих ферментов происходит в ответ на повреждение ДНК, вызванное эндогенными и экзогенными повреждающими агентами. Исправление повреждений в структуре ДНК приводит к снижению экспрессии проапоптогенных факторов, уменьшению количества цитогенетически измененных клеток, что можно расценивать как ингибирование повышенного уровня мутагенеза. Активация процессов репарации обеспечивает снижение запрограммированной клеточной гибели.

Восстановление уровня активности ферментов, являющихся маркерами цитолиза клеток, может быть связано с формированием межклеточных контактов между клетками печени и ММСК [5, 2]. Данный вид стволовых клеток способен индуцировать выработку белков теплового шока (шаперонов) в гепатоцитах

[15]. Шапероны обеспечивают стабилизацию цитоскелета, увеличивают устойчивость клеток к повреждению, денатурации структурных и функциональных белков клетки.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют, что сочетанная трансплантация ММСК и ЗКП положительно влияет на морфофункциональное состояние печени в условиях ее токсического повреждения. Значимым механизмом можно считать влияние трансплантируемых ММСК и ЗКП на систему репарации клеток.

Литература

(п.п. 1-5; 9-12; 14; 15 см. References)

- Базарный В.В., Маклакова И.Ю., Гребнев Д.Ю., Юсупова В.Ч., Петрунина Е.М. К вопросу о клеточной регуляции регенерации печени. *Вестник Уральской медицинской академической науки.* 2019; 16(3): 357-64. <https://doi.org/10.22138/2500-0918-2019-16-3-357-364>
- Аруин Л.И., Бабаева А.Г., Гельфанд В.Б. и др. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций, под ред. Д.С. Саркисова. М.: Медицина; 1987.
- Шафигуллина А.К., Гумерова А.А., Трондин А.А., Титова М.А. Газизов И.М., Бурганова Г.Р. и др. Трансплантированные звездчатые клетки печени участвуют в регенерации органа после частичной гепатэктомии без риска развития фибро-

- за печени. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2012; VII (3).
13. Баглей Е.А., Недопитанская Н.Н., Лисовская В.С. Изучение генотоксичности ципроконазола в микроядерном тесте на гепатоцитах и эритроцитах костного мозга мышей. *Украинский журнал современных проблем токсикологии*. 2014; (1-2): 64-5.
- ### References
1. Brown Ch., McKee Ch., Bakshi Sh., Walker K., Govind C.K., Chaudhry G.R., et al. Mesenchymal Stem Cells: Cell Therapy and Regeneration Potential. *J Tissue Eng Regen Med*. 2019; 13(9): 1738-55. <https://doi.org/10.1002/term.2914>
 2. Hu C., Chenxia Hu, Lanjuan Li. Preconditioning influences mesenchymal stem cell properties in vitro and in vivo. *J Cellul Molec Med*. 2018; 22(3): 1428-42.
 3. Alfaif M. Mesenchymal stromal cell therapy for liver diseases / Mohammed Alfaifi, Young Woo Eom, Philip N., et al. *Journal of Hepatology*. 2018; Vol. 68: 1272-85.
 4. Christ B. The Therapeutic Promise of Mesenchymal Stem Cells for Liver Restoration / B. Christ, S. Brückner, S. Winkler // Trends in Molecular Medicine; 2016; 21(11): 673-686.
 5. Gilgenkrantz H. Understanding liver regeneration from mechanisms to regenerative medicine / H. Gilgenkrantz, A. C. de l'Hortet. *The American Journal of Pathology*. 2018; 188(6): 1316-27.
 6. Bazarnyj V.V., Maklakova I.Yu., Grebnev D.Yu., Yusupova V.Ch., Petrunina E.M. On the issue of cellular regulation of liver regeneration. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*. 2019; 16(3): 357-64. (in Russian). DOI: 10.22138/2500-0918-2019-16-3-357-364
 7. Aruin L.I., Babaeva A.G., Gel'fand V.B., et al. *Structural bases of adaptation and compensation of impaired functions. [Strukturnye osnovy adaptatsii i kompensatsii narushennykh funktsiy]*. D.S. Sarkisov, ed. Moscow: Meditsina; 1987. (in Russian)
 8. Transplanted stellate liver cells participate in organ regeneration after partial hepatectomy without the risk of liver fibrosis / Shafigullina A.K., Gumerova A.A., Trondin A.A., Titova M.A. Gazizov I.M., Burganova G.R., Kaligin M.S., Andreeva D.I., Rizvanov A.A., Muhammedov A.R., Kiyasov A.P. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2012; VII (3). (in Russian)
 9. Gumerova A.A., Shafigullina A.K., Trondin A.A., Gazizov I.M., Andreeva D.I., Kaligin M.S., et al. Hepatic stellate cells stimulate hepatocyte differentiation of rat's bone marrow derived mesenchymal stem cells in vitro. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2011; 6(4): 72-81.
 10. Kordes C., Sawitza I., Gotze S., Herebian D. " aussinger, " Hepatic stellate cells contribute to progenitor cells and liver regeneration. *Journal of Clinical Investigation*. 2014; 124 (12): 5503-15.
 11. Yin C., Evason K.J., Asahina K., Stainier D.Y. Hepatic stellate cells in liver development, regeneration, and cancer. *Journal of Clinical Investigation*. 2013; 123(5): 1902-10.
 12. Kobolak J., Dinnyes A., Memic A., et al. Mesenchymal Stem Cells: Identification, Phenotypic Characterization, Biological Properties and Potential for Regenerative Medicine Through Biomaterial Micro-Engineering of Their Niche. *Methods in Cell Science*. 2016; 99: 62-8.
 13. Bagley E.A., Nedopitanskaya N.N., Lisovskaya V.S. The study of cyproconazole genotoxicity in micronucleus test in hepatocytes and erythrocytes of mice bone marrow. *Ukrainskiy zhurnal sovremennykh problem toksikologii*. 2014; (1-2): 64-5. (in Russian)
 14. Flow-cytometric assessment of cellular poly(ADP-ribosyl)ation capacity in peripheral blood lymphocytes / A. Kunzmann, D. Lui, K. Annett [et al.] *Immunity & Ageing*. 2006; 3:8. doi:10.1186/1742-4933-3-8
 15. Fitter S., Gronthos S., Ooi S.S., Zannettino A.C.W. The mesenchymal precursor cell marker antibody STRO-1 binds to cell surface heat shock cognate 70. *Stem Cells*. 2017; 35(4): 940-51.

Сведения об авторах:

Маклакова Ирина Юрьевна, канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России; ст. науч. сотр. ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий, e-mail: makliu@mail.ru;

Цвиренко Сергей Васильевич, доктор мед. наук, зав. каф. клин. лаб. диагностики и бактериологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, e-mail: tsvirenkos@bk.ru;

Базарный Владимир Викторович, доктор мед. наук, проф. каф. клин. лаб. диагностики и бактериологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, e-mail: bazarnyy_v@bk.ru;

Гребнев Дмитрий Юрьевич, доктор мед. наук, зав. каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, e-mail: dr-grebnev77@mail.ru

© Охремчук Л.В., Семинский И.Ж., 2021

УДК 616-092.9:615.099]:615.272

Охремчук Л.В., Семинский И.Ж.

Протекторный эффект адеметионина, цитофлавина и дигидрохверцетина у крыс, подвергнутых токсическому влиянию вальпроата натрия

ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, 664003, Иркутск, Россия, ул. Красного Восстания, д. 1

Введение. Вальпроат натрия влияет на метаболизм гамма-аминомасляной кислоты, предотвращая развитие эпилептических приступов. Многие метаболиты вальпроата натрия потенцируют его клинический эффект, однако, именно они могут приводить к развитию хронической интоксикации с поражением печени.

Цель – оценка протекторного эффекта адеметионина (гептрала), цитофлавина и дигидрохверцетина у крыс, подвергнутых токсическому влиянию вальпроата натрия (депакина).

Методика. Животным контрольной группы вводили вальпроат натрия в токсической дозе 600 мг/кг интрагастрально 1 раз в день в течение 28 сут. Крысам опытных групп вводили вальпроат натрия в той же дозе с одновременным введением адеметионина, цитофлавина или дигидрохверцетина. Животные выводились из эксперимента на 7-, 14-, 21- и 28-е сут. В гомогенате печени определяли стандартными спектрофотометрическими методами концентрацию диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, восстановленного глутатиона и активность ферментов метаболизма глутатиона: глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы.

Результаты. При токсическом воздействии вальпроата натрия в ткани печени развивались процессы гиперпероксидации липидов, которые подтверждались значительным повышением уровня диеновых конъюгатов и малонового диальдегида. Концентрация глутатиона снижалась начиная с 14-х сут эксперимента. Активность глутатионредуктазы повышалась к 14-м сут, а затем к 28-м сут практически достигала значений интактных животных. Активность глутатионтрансферазы начинала снижаться с 14-х сут и сохранялась низкой до конца исследования. Активность глутатионпероксидазы повышалась с 14-х сут эксперимента, достигая максимума к 28-м сут. Протекторный эффект адеметионина при токсическом воздействии вальпроата натрия выражался в снижении содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида. Одновременно происходила активация системы глутатиона: повышалась активность глутатионтрансферазы и глутатионредуктазы. Антиокислительное действие цитофлавина проявлялось в основном на 1-й нед эксперимента: концентрация диеновых конъюгатов и малонового диальдегида снижалась, активность глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы повышалась. Дигидрохверцетин также оказывал антиокислительное действие: концентрация диеновых конъюгатов и малонового диальдегида снижалась. Активность глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы увеличивалась по сравнению с контрольными животными.

Заключение. Вальпроат натрия в токсической дозе приводит к статистически значимому повышению уровня продуктов перекисного окисления липидов и снижению антиокислительной защиты системы глутатиона в печени крыс. Адеметионин, цитофлавин и дигидрохверцетин способствуют восстановлению баланса системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в печени крыс при токсическом влиянии вальпроата натрия. Наиболее перспективным препаратом защиты является адеметионин, так как он наиболее существенно снижает концентрацию диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и повышает активность системы глутатиона на протяжении 28 сут эксперимента.

Ключевые слова: протекторный эффект; печень; глутатион; перекисное окисление липидов; вальпроат натрия (депакин); адеметионин (гептрал); цитофлавин, дигидрохверцетин

Для цитирования: Охремчук Л.В., Семинский И.Ж. Протекторный эффект адеметионина, цитофлавина и дигидрохверцетина у крыс, подвергнутых токсическому влиянию вальпроата натрия. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(3): 56-63.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.56-63

Участие авторов: проведение эксперимента, сбор и обработка материала, статистическая обработка результатов, написание текста – Охремчук Л.В.; концепция и дизайн исследования, статистическая обработка результатов, написание текста, редактирование – Семинский И.Ж.

Для корреспонденции: Охремчук Людмила Васильевна, e-mail: doktor777030371@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Поступила 05.09.2020
Принята к печати 30.06.2021
Опубликована 30.09.2021

Okhremchuk L.V., Seminskiy I.Zh.

Protective effects of ademetionine, cytoflavin, and dihydroquercetin in the liver of rats exposed to toxic effects of valproate sodium

Irkutsk State Medical University,
Krasnogo Vosstaniya St. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation

Background. Sodium valproate affects metabolism of gamma-aminobutyric acid to prevent the development of epileptic seizures. Many valproic acid metabolites potentiate its clinical effect; however, specifically these metabolites may result in chronic intoxication with liver damage.

Aim: To evaluate the protective effect of ademetionine (Heptral), cytoflavin, and dihydroquercetin in rats exposed to the toxic action of sodium valproate (Depakene).

Methods. Animals of the control group were administered valproate sodium at a toxic dose of 600 mg/kg, intragastrically. Rats of the experimental group were administered valproate sodium at a dose of 600 mg/kg with simultaneous administration of ademetionine, cytoflavin and dihydroquercetin. The duration of drug administration in all groups was 7 days, 14 days, 21 days, or 28 days. The contents of diene conjugates, malonic dialdehyde, reduced glutathione, and the activity of glutathione reductase, glutathione peroxidase, and glutathione transferase were measured in liver homogenates with standard spectrophotometric methods.

Results. Under the toxic effects of valproate sodium in liver tissue, a significant increase in the contents of diene conjugates and malonic dialdehyde was found. The glutathione concentration decreased starting from day 14 of the experiment. The glutathione reductase activity increased by day 14 and practically reached the values of intact animals by day 28. The glutathione transferase activity began decreasing on day 14 and remained low until the end of study. The glutathione peroxidase activity increased starting from day 14 and reached maximum by day 28. The protective effect of ademetionine was manifested by a decrease in the contents of diene conjugates and malonic dialdehyde. There was a simultaneous activation of the glutathione system evident as increased activities of glutathione transferase and glutathione reductase. An antioxidant effect of cytoflavin was manifested mainly at the 1st wk of the experiment. The concentration of diene conjugates and malonic dialdehyde decreased, the activity of glutathione reductase increased, and the activity of glutathione transferase increased. Dihydroquercetin also had an antioxidant effect since the concentration of diene conjugates and malonic dialdehyde decreased. The activity of glutathione reductase and glutathione transferase increased.

Conclusion. Sodium valproate significantly increased concentrations of lipid peroxidation products and impaired the glutathione antioxidant defense in the rat liver. Ademetionine, cytoflavin and dihydroquercetin help to restore the balance of lipid peroxidation and antioxidant protection in the rat liver during the toxic effects of valproate sodium. The most effective drug was ademetionine, since within 28 days, it significantly decreased the concentration of diene conjugates and malonic dialdehyde, and it increased the activity of the glutathione system.

Keywords: protective effect; liver; glutathione; lipid peroxidation; sodium valproate (Depakene); ademetionine (Heptral); cytoflavin; dihydroquercetin

For citation: Okhremchuk L.V., Seminskiy I.Zh. Protective effect of ademetionine, cytoflavin and dihydroquercetin in the liver of rats exposed to toxic effects of valproate sodium. *Patologicheskaya Fiziologiyai Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(3): 56-63. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.56-63

Contribution: conducting the experiment, collecting and processing the material, statistical processing of the results, writing the text – Okhremchuk L.V.; the concept and design of the study, statistical processing of the results, writing the text, editing – Seminskiy I.Zh.

For correspondence: Lyudmila V. Okhremchuk, Candidate of Medical Sciences, Irkutsk State Medical University, 1 Krasnogo Vosstaniya Str., Irkutsk 664003, Russian Federation, e-mail: doktor777030371@gmail.com

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

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

Information about the authors:

Okhremchuk L.V., <https://orcid.org/0000-0002-4371-6039>

Seminskiy I.Zh., <https://orcid.org/0000-0002-5982-3875>

Received: 05.09.2020

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

За последнее десятилетие возросла доля токсического поражения печени лекарственными средствами (ЛС). К настоящему времени подтверждена роль более тысячи ЛС, пищевых добавок и растительных продуктов в развитии лекарственно индуцированных поражений печени и этот перечень продолжает увеличиваться с каждым годом [1-3]. В качестве одного из провоцирующих повреждение печени препаратов может явиться вальпроат натрия (ВН). ВН широко используется в эпилептологии, т. к. он влияет на метаболизм гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), предотвращая развитие эпилептических приступов и когнитивного дефицита, что достигается длительным проведением лекарственной терапии в среднем в течение 2-5 лет и более, или пожизненно [4]. Многие метаболиты ВН – биологически активные вещества, которые потенцируют его клинический эффект, однако, именно они могут приводить к хронической интоксикации с развитием поражения печени [5]. Частота нежелательных побочных реакций (НПР) на фоне противосудорожной терапии варьирует от 7 до 25 % [4, 5], может достигать 68,3% [6]. Частота развития гепатита наблюдается у 1:20 000 человек среди всех леченых; для детей моложе 2 лет, получающих политерапию, риск возрастает до 1:600-1:800 и снижается по мере взросления [2, 4-6].

В предыдущих наших исследованиях на животных в установке «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» показано, что ВН в дозе 600 мг/кг обладает анксиогенными (тревожными) свойствами. Это проявляется подавлением горизонтальной активности; снижением вертикальной активности; подавлением исследовательской активности (норковый рефлекс) животных и изменением их эмоциональной активности, что свидетельствует о выраженных реакциях тревоги и страха [7]. Учитывая, что в клинической практике при эпилепсии применяется длительная фармакотерапия ВН, изучение закономерности ответной реакции организма на токсическое воздействие препарата представляет несомненный интерес. Подходы к лечению и профилактике токсического эффекта ВН должны включать поиск патогенетических средств, оказывающих комплексное воздействие. По нашему мнению этой задаче в полной мере отвечают S-адеметионил-L-метионин (адеметионин), цитофлавин, дигидрокверцетин [8].

Цель исследования – определение содержания диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), восстановленного глутатиона (GSH) и активности глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионтрансферазы (ГТ) в печени бес-

породных крыс подвергнутых токсическому действию ВН (депакина) и оценка протекторного эффекта адеметионина (гептрала), цитофлавина, дигидрокверцетина на протяжении 28 суток исследования.

Методика

Эксперимент проведен на 238 белых беспородных крысах-самцах (масса тела 190–210 г.), которые находились в условиях вивария Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Восточно-сибирский институт медико-экологических исследований» (Ангарск). Животные находились в стандартных условиях вивария с естественной сменой светового цикла, имели свободный доступ к пище и воде. Работу с животными проводили в соответствии с «Правилами надлежащей лабораторной практики», утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 1 апреля 2016 г. и Межгосударственными стандартами ГОСТ 33215-2014, ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными», соответствующими Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях (ЕТС № 123, Страсбург, 18 марта 1986 г. с приложением от 15.06.2006). Исследование одобрено Этической комиссией Иркутского государственного медицинского университета, соответствует нормативным требованиям проведения доклинических экспериментальных исследований (протокол № 3 от 06.03.2019).

В соответствии с протоколом исследования все беспородные крысы были распределены на группы: 1-я группа – интактные животные, 2-я – группа сравнения (контрольная) получала противосудорожный препарат ВН (доза 600мг/кг) интрагастрально 1 раз в день в течение 28 сут. Группы 3-, 4- и 5-я – опытные. Животные этих групп получали интрагастрально 1 раз в день ВН (доза 600мг/кг) с одновременным введением адеметионина в растворе (1000 мг/кг внутривентриально) на основе лиофилизата (3-я группа), цитофлавина (100 мг/кг, расчет по сукцинату) в/брюшинно (4-я группа) и дигидрокверцетин, субстанцию которого вводили интрагастрально в 1% растворе крахмального клейстера в дозе 50 мг/кг (5-я группа). Дозу ВН рассчитывали исходя из среднесуточной дозы для человека массой 60 кг, которая составляет 1200 – 2100 мг в сутки [9]. Эту дозу мы увеличили на 50% в пересчете на массу тела животных. Препараты коррекции применяли за 1,5 ч до введения ВН 1 раз в сут ежедневно на протяжении 28 сут в средних терапевтических дозах. Животные выводились из эксперимента через 7, 14, 21 и 28 сут с применением диэтилового эфира. В растворе гомо-

гената печени определяли стандартными спектрофотометрическими методами концентрацию ДК, МДА [10, 11], GSH и активность ферментов метаболизма глутатиона: ГПО, ГР и ГТ [12, 13]. Для анализа полученных данных использовали пакет STATISTICA7,0 Stat-SoftInc, США. При анализе близости распределения данных к нормальному закону использовали визуально-графический метод и критерии согласия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро-Уилка. Проверка равенства генеральных дисперсий осуществлялась с помощью критерия Фишера (F-test). При анализе межгрупповых различий для независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости принимался равным 5% (0,05).

Результаты

Как следует из **таблицы 1**, введение крысам токсической дозы ВН приводит к постепенному увеличению концентрации ДК и МДА в ткани печени в течение всего срока наблюдения. Максимальное значение этих показателей регистрируется на 28-е сут эксперимента. Концентрация CSH незначительно снижается по сравнению с контролем начиная с 7-х сут. Активность ГР максимальна на 14-е сут наблюдения, ГТ незначительно снижается начиная с 14-х сут по сравнению с контрольными животными. Активность ГПО резко возрастает с 7-х до 28-х сут эксперимента. В целом, представленные показатели отражают динамику развития оксидативного стресса в клетках печени, который сопровождается дисбалансом в системе ПОЛ-АОЗ в сторону увеличения продуктов окисления ли-

пидов и снижения механизмов предупреждения гиперпероксидации.

В **таблице 2** представлены результаты эксперимента по коррекции токсического действия ВН адеметионином. Показано, что одновременное с ВН введение адеметионина приводит к значительному снижению уровня МДА и ДК, небольшому снижению концентрации CSH в ткани печени крыс в течение всего срока наблюдения. Активность ГР и ГТ в целом увеличивается, а ГПО снижается начиная с 14-х сут эксперимента. Полученные результаты свидетельствуют о явном протекторном действии адеметионина, который восстанавливает равновесие в системе ПОЛ-АОЗ в печени крыс, подвергнутых воздействию токсических доз ВН.

В **таблице 3** демонстрируются показатели системы ПОЛ-АОЗ в печени животных, которым в качестве препарата коррекции вводили цитофлавин. Установлено, что введение цитофлавина приводит к уменьшению концентрации продуктов пероксидации в ткани печени (уровень МДА и ДК статистически значимо снижен на протяжении времени эксперимента). Наблюдается оптимизация активности ряда ферментов системы глутатиона по сравнению с контрольными животными, то есть цитофлавин может предупреждать сверхактивацию ПОЛ, вызванную токсическим действием ВН.

Таблица 4 демонстрирует результаты эксперимента по влиянию дигидрохверцетина на показатели ПОЛ и системы АОЗ в ткани печени крыс, подвергнутых влиянию токсических доз ВН. Регистрируется снижение уровня МДА и ДК в печени у этой группы животных по сравнению с контролем в те-

Таблица 1/Table 1

Концентрации ДК, МДА, GSH и активность ГР, ГТ, ГПО в печени крыс, подвергнутых воздействию ВН, (M±m)

Concentrations of DC, MDA, and GSH and activities of GR, GT, and GPO in the liver of rats exposed to the toxic effect of SV as compared to intact animals

Показатели	Группа 1 интактные n= 30	Сроки исследования (сутки)			
		7 сут	14 сут	21 сут	28 сут
		Группа 2 контрольные n=23	Группа 2 контрольные n=13	Группа 2 контрольные n=13	Группа 2 контрольные n=15
ДК, мкмоль/мл	5,71±0,34	10,81±0,33**	14,91±0,36**	17,22±0,51**	29,32±0,52**
МДА, мкмоль/мл	5,13±0,23	8,32±0,31**	8,32±0,20**	14,51±0,47**	17,51±0,48**
GSH, мкмоль/г	5,42±0,05	5,41±0,06	4,51±0,26**	4,53±0,26**	4,63±0,19**
ГР, нмоль/мин на 1 мг белка	16,41±0,61	17,23±0,86	29,33±0,65**	13,52±0,57**	15,81±0,62
ГТ, нмоль/мин на 1 мг белка	307,12±9,56	308,21±10,54	223,12±7,82**	250,11±8,03**	249,23±5,41**
ГПО, нмоль/мин на 1 мг белка	84,12±1,49	86,11±0,98	98,23±6,83**	82,11±5,93	154,21±7,21**

Примечание. ** – статистически значимые различия ($p < 0,05$) между животными, получавшими ВН и интактными.

Note. ** – statistically significant differences ($p < 0.05$) between animals treated with sodium valproate and intact ones.

чение 28 сут наблюдения. Концентрация CSH также незначительно снижена. Активность ферментов глутатиона (ГР, ГПО, ГТ) статистически значимо повышена на протяжении всего периода наблюде-

ния по сравнению с контрольными крысами. В целом, имеется тенденция к позитивному влиянию ди-гидрохверцетина на процесс ПОЛ у крыс, получавших большие дозы ВН.

Таблица 2/Table 2

Концентрации ДК, МДА, GSH и активность ГР, ГТ, ГПО в печени крыс, подвергнутых воздействию ВН и препарата коррекции адеметионина, (M±m)

Concentrations of DC, MDA, and GSH and activities of GR, GT, and GPO in the liver of rats exposed to the toxic effect of SV and the corrective treatment with ademetionine

Показатели	Сроки исследования (сутки)							
	7 сут		14 сут		21 сут		28 сут	
	Группа 2-я (контроль) n=23	Группа 3-я (опыт) n=14	Группа 2-я (контроль) n=13	Группа 3 (опыт) n=12	Группа 2-я (контроль) n=13	Группа 3 (опыт) n=13	Группа 2 (контроль) n=15	Группа 3 (опыт) n=12
ДК, мкмоль/мл	10,81±0,33	8,43±0,18*	14,91±0,36	10,82±0,23*	17,22±0,51	16,73±0,20	29,32±0,52	17,32±0,30*
МДА, мкмоль/мл	8,32±0,31	6,52±0,12*	8,32±0,20	5,41±0,17*	14,51±0,47	7,12±0,25*	17,51±0,48	6,91±0,30*
GSH, мкмоль/г	5,41±0,06	5,54±0,05	4,51±0,26	4,44±0,14	4,53±0,26	4,82±0,10	4,63±0,19	4,23±0,03*
ГР, нмоль/мин на 1 мг белка	17,23±0,86	26,51±0,59*	29,33±0,65	28,71±0,47	13,52±0,57	27,71±0,25*	15,81±0,62	27,32±0,16*
ГТ, нмоль/мин на 1 мг белка	308,21±10,54	282,21±8,64	223,12±7,82	326,32±12,8*	250,11±8,03	320,22±2,85*	249,23±5,41	352,13±7,74*
ГПО, нмоль/мин на 1 мг белка	86,11±0,98	91,32±1,61*	98,23±6,83	68,21±3,29*	82,11±5,93	67,32±1,19*	154,21±7,21	58,34±0,58*

Примечание. * – статистически значимые ($p < 0,05$) различия между животными, получавшими ВН и препарат адеметионин с протекторной активностью и животными, получавшими только ВН.

Note. * – statistically significant ($p < 0.05$) differences between animals treated with sodium valproate and the drug ademetionine with protective activity and animals treated only with sodium valproate.

Таблица 3/ Table 3

Концентрации ДК, МДА, GSH и активность ГР, ГТ, ГПО в печени крыс, подвергнутых воздействию ВН и препарата коррекции цитофлавина, (M±m)

Concentrations of DC, MDA, and GSH and activities of GR, GT, and GPO in the liver of rats exposed to the toxic effect of SV and the corrective treatment with citoflavin

Показатели	Сроки исследования (сутки)							
	7 сут		14 сут		21 сут		28 сут	
	Группа 2-я (контроль) n=23	Группа 4-я (опыт) n=11	Группа 2-я (контроль) n=13	Группа 4-я (опыт) n=12	Группа 2-я (контроль) n=13	Группа 4 (опыт) n=13	Группа 2 (контроль) n=15	Группа 4 (опыт) n=12
ДК, мкмоль/мл	10,81±0,33	9,52±0,04*	14,91±0,36	12,83±0,13*	17,22±0,51	15,52±0,79	29,32±0,52	21,31±0,09*
МДА, мкмоль/мл	8,32±0,31	7,31±0,02*	8,32±0,20	6,71±0,11*	14,51±0,47	8,41±0,10*	17,51±0,48	7,13±0,04*
GSH, мкмоль/г	5,41±0,06	4,14±0,04*	4,51±0,26	4,44±0,01	4,53±0,26	4,33±0,03	4,63±0,19	5,11±0,03*
ГР, нмоль/мин на 1 мг белка	17,23±0,86	29,42±0,52*	29,33±0,65	29,12±0,43	13,52±0,57	27,81±0,29*	15,81±0,62	27,81±0,09*
ГТ, нмоль/мин на 1 мг белка	308,21±10,54	317,22±6,54	223,12±7,82	272,13±3,84*	250,11±8,03	311,23±2,91*	249,23±5,41	347,14±5,98*
ГПО, нмоль/мин на 1 мг белка	86,11±0,98	63,42±1,39*	98,23±6,83	61,14±1,06*	82,11±5,93	59,33±0,49*	154,21±7,21	70,32±0,75*

Примечание. * – статистически значимые различия ($p < 0,05$) между животными, получавшими ВН и препарат цитофлавин с протекторной активностью и животными, получавшими только ВН.

Note. * – statistically significant differences ($p < 0.05$) between animals receiving sodium valproate and the drug cytoflavin with protective activity and animals receiving only sodium valproate.

Обсуждение

Согласно полученным данным введение крысам больших доз ВН вызывает значительные изменения в системе ПОЛ-АОЗ ткани печени, что выражается в накоплении продуктов перекисидации и резком снижении активности ферментов системы глутатиона в гепатоцитах. Это может быть связано как с прямым поражением клеток одним из токсичных метаболитов ВН – пропиленовой кислотой, так и опосредованным влиянием ВН, который подавляет синтез и активность ферментов дыхательной цепи, угнетает β -окисление жирных кислот в митохондриях гепатоцитов, активирует апоптозные каспазы [14]. Одновременно, при хронической передозировке ВН снижается уровень L-карнитина, что приводит к накоплению жирных кислот в цитоплазме гепатоцитов, уменьшению содержания глутатиона [15-17].

Выявленный нами протекторный эффект адеметионина может быть обусловлен его регуляторным влиянием на процессы роста и дифференцировки гепатоцитов, он является главным донором метила и, таким образом, восстанавливает запасы глутатиона в печени в эксперименте [18-20]. Защитное действие цитофлавина, которое мы регистрировали у крыс с интоксикацией ВН, скорее всего связано с неспецифическим

влиянием этого препарата на биоэнергетику клетки, которое приводит к восстановлению активности ферментов антиоксидантной защиты, уменьшению продукции свободных радикалов, повышает активность ГПО и ГТ [21]. Установлено, что дигидрокверцетин проявляет незначительный антиоксидантный эффект у крыс с передозировкой ВН. Имеются данные о том, что дигидрокверцетин уменьшает расходование витамина Е, оказывает синергическое действие в отношении аскорбиновой кислоты, способствует уменьшению повреждающего действия пероксида [22, 23].

Заключение

Проведенные исследования показали, что ВН в токсической дозе приводит к статистически значимому повышению продуктов ПОЛ и снижению антиоксидантной защиты (АОЗ) в печени. Адеметионин, цитофлавин и дигидрокверцетин способствуют восстановлению баланса системы ПОЛ-АОЗ в печени крыс и могут использоваться в качестве гепатопротекторов при передозировке ВН. По нашему мнению, наиболее перспективным препаратом защиты является адеметионин, так как он более значительно снижает концентрацию ДК, МДА и повышает активность системы глутатиона на протяжении 28 сут.

Таблица 4/Table 4

Концентрации ДК, МДА, GSH и активность ГР, ГТ, ГПО в печени крыс, подвергнутых воздействию ВН и препарата коррекции дигидрокверцетина, ($M \pm m$)

Concentrations of DC, MDA, and GSH and activities of GR, GT, and GPO in the liver of rats exposed to the toxic effect of SV and the corrective treatment with dihydroquercetin

Показатели	Сроки исследования (сутки)							
	7 сут		14 сут		21 сут		28 сут	
	Группа 2 (контроль) <i>n</i> =23	Группа 5 (опыт) <i>n</i> =11	Группа 2 (контроль) <i>n</i> =13	Группа 5 (опыт) <i>n</i> =10	Группа 2 (контроль) <i>n</i> =13	Группа 5 (опыт) <i>n</i> =12	Группа 2 (контроль) <i>n</i> =15	Группа 5 (опыт) <i>n</i> =12
ДК, мкмоль/мл	10,81±0,33	10,52±0,15	14,91±0,36	13,22±0,29*	17,22±0,51	15,22±0,13*	29,32±0,52	19,22±0,05*
МДА, мкмоль/мл	8,32±0,31	4,62±0,06*	8,32±0,20	4,71±0,07*	14,51±0,47	8,12±0,29*	17,51±0,48	10,32±0,04*
GSH, мкмоль/г	5,41±0,06	4,33±0,09*	4,51±0,26	4,33±0,12	4,53±0,26	5,13±0,02*	4,63±0,19	3,74±0,04*
ГР, нмоль/мин на 1 мг белка	17,23±0,86	24,21±0,02*	29,33±0,65	24,41±0,46*	13,52±0,57	24,13±0,39*	15,81±0,62	22,12±0,16*
ГТ, нмоль/мин на 1 мг белка	308,21±10,54	147,22±2,07*	223,12±7,82	287,23±4,59*	250,11±8,03	275,23±4,48*	249,23±5,41	281,22±2,20*
ГПО, нмоль/мин на 1 мг белка	86,11±0,98	56,23±0,47*	98,23±6,83	56,32±0,55*	82,11±5,93	57,31±0,35*	154,21±7,21	57,82±0,21*

Примечание. * – статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между животными, получавшими ВН и препарат дигидрокверцетин с протекторной активностью и животными, получавшими только ВН.

Note. * – statistically significant differences ($p \leq 0.05$) between animals receiving sodium valproate and the drug dihydroquercetin with protective activity and animals receiving only sodium valproate.

Литература

(п.п. 3; 6; 13; 16; 17; 19; 20; 23 см. References)

1. Логинов А.Ф., Буторова Л.И., Логинов В.А. Лекарственные поражения печени: диагностика, лечение. *РМЖ*. 2016; 11: 721-7.
2. Ивашкин В.Т., Барановский А.Ю., Райхельсон К.Л., Пальгова Л.К., Маевская М.В., Кондрашина Э.А., и др. Лекарственные поражения печени (клинические рекомендации для врачей). *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2019; 29(1): 101-31.
4. Власов П.Н., Орехова Н.В., Антонюк М.В., Филатова Н.В., Шнайдер Н.А., Дмитренко Д.В. и др. Эффективность и безопасность препаратов вальпроевой кислоты с контролируемым высвобождением активного вещества у взрослых в реальной клинической практике с позиции фармакокинетического и фармакогенетического подхода. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2017; 51: 11-20.
5. Пылаева О.А., Мухин К.Ю., Петрухин А.С., ред. *Побочные эффекты антиэпилептической терапии*. М.: ГРАНАТ; 2016.
7. Охремчук Л.В., Семинский И.Ж. Закономерности нарушения поведенческой активности беспородных крыс при токсическом воздействии вальпроата натрия (сообщение 1). *ЭНИ Забайкальский медицинский вестник*. 2018; 4: 35-47.
8. Семинский И.Ж., Охремчук Л.В. Протекторный эффект адеметионина, цитофлавина, дигидрокверцетина при нарушении поведенческой активности беспородных крыс подвергнутых воздействию вальпроата натрия в токсической дозе (сообщение 2). *ЭНИ Забайкальский медицинский вестник*. 2018; 4: 48-63.
9. Белоусов Ю.Б., Кукес В.Г., Лепяхин В.К., Петрова В.И., ред. *Клиническая фармакология: национальное руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2014.
10. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови. *Лабораторное дело*. 1983; 3: 23-5.
11. Стальная И.Д., Граишвили Т.Г. *Метод определения малонового диальдегида*. М.: Медицина; 1977.
12. Колесниченко Л.С., Кулинский В.И., Сотникова Г.В., Ковтун В.Ю. Влияние направленного изменения концентрации глутатиона на температуру тела и толерантность к ишемии головного мозга. *Биохимия*. 2003; 68(5): 656-63.
14. Шнайдер Н.А., Дмитренко Д.В. Хроническая интоксикация вальпроевой кислотой в эпилептологии: диагностика и лечение. *Неврология, Нейропсихиатрия, Психосоматика*. 2016; 8(2): 94-9.
15. Малеев В.В., Ситников И.Г., Бохонов М.С. *Вопросы гепатологии*. Учебное пособие. Санкт-Петербург; 2016.
18. Силивончик Н.Н., Адаменко Е.И., Богущ Л.С. Адеметионин: физиологические эффекты и применение в лечении заболеваний печени. *Международные обзоры: клиническая практика и здоровье*. 2017; 2(25): 33-49.
21. Доровских В.А., Симонова Н.В., Переверзев Д.И., Штарберг М.А. Сравнительная эффективность цитофлавина и его составных компонентов при окислительном стрессе в эксперименте. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2017; 80(4): 18-22.
22. Роговский В.С. Антигипертензивная и нейропротекторная активность кверцетина и его производных. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2012; 75(9): 37-41.
1. Loginov A.F., Butorova L.I., Loginov V.A. Drug-induced liver injury: diagnosis and treatment. *RMJ. Gastroenterology*. 2016; 11: 721-27. (in Russian)
2. Ivashkin V.T., Baranovsky A.Yu., Raikhelson K.L., Palgova L.K., Maevskaya M.V., Kondrashina E.A., et al. Drug-Induced Liver Injuries (Clinical Guidelines for Physicians). *Rus J Gastroenterol Hepatol Coloproctol*. 2019; 29(1): 101-31. (In Russian)
3. Bunchorntavakul C., Reddy K.R. Reviewarticle: herbal and dietary supplement hepatotoxicity. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013; 37(1): 3-17.
4. Vlasov P.N., Orekhova M.V., Filatova N.V., Schnaider Dmitrenko D.V., Zobova S.N., Poverennova I.E., et al. The efficacy and safety of valproic acid medications with controlled active ingredient release in adults in real clinical practice from the position of pharmacokinetic and pharmacogenetic approaches. *Nevrologiya, neyropsikhiatriya, psikhosomatika*. 2017; 51: 11-20. (In Russian)
5. Pylaeva O.A., Mukhin K. Yu., Petrukhin A.S., eds. *Side effects of anti-epileptic medication. Pobochnye efekty anti-epilepticheskoy terapii. [Pobochnye efekty anti-epilepticheskoy terapii]*. Moscow; Granat; 2016. (In Russian)
6. Nevitt S.J., Sudell M., Weston J., Tudur Smith C., Marson A.G. Anti-epileptic drug monotherapy for epilepsy: a network metaanalysis of individual participant data. *Cochrane Database Syst. Rev*. 2017; Jun (6): 572-73.
7. Okhremchuk L.V., Seminsky I. Zh. Regularities of the impaired behavior alactivity in mongrel rats under the toxic effects of sodium valproate (report 1). *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik*. 2018; 4: 35-47. (In Russian)
8. Seminsky I.Zh., Okhremchuk L.V. The protective effect of ademetionine, cytoflavinum, dihydroquercetin in the violation of behavioral activity in mongrel rats exposed to sodium valproate at a toxic dose (report № 2). *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik*. 2018; 4: 48-63. (In Russian)
9. Belousov Yu.B., Kukes V.G., Lepakhin V.K., Petrov V.I., ed. *Clinical pharmacology: national guidelines. [Klinicheskaya farmakologiya: natsional'noe rukovodstvo]*. Moscow: GEOTAR-media; 2014. (In Russian)
10. Gavrilov V.B., Mishkorudnaya M.I. Spectrophotometric determination of lipid hydroperoxides in blood plasma. *Laboratory business*. 1983; 3: 23-5. (In Russian)
11. Stalnaya I.D., Garishvili T.G. *Method for the determination of malondialdehyde. [Metod opredeleniya malonovogo dial'degida]*. Moscow: Meditsina; 1977. (In Russian)
12. Kolesnichenko L.S., Kulinsky V.I., Sotnikova G.V., Kovtun V.Yu. The influence of purposeful changes of glutathione concentration on body temperature and the tolerance to cerebral ischemia. *Biokhimiya*. 2003; 68(5): 656-63. (In Russian)
13. Anderson M.E. *Enzymatic and chemical methods for the determination of glutathione*. N.Y; 1989: 339-66.
14. Schnaider N.A., Dmitrenko D.V. Chronic valproic acid intoxication in epileptology: diagnosis and treatment. *Nevrologiya, neyropsikhiatriya, psikhosomatika*. 2016; 8(2): 94-9. (In Russian)
15. Maleyev V.V., Sitnikov I.G., Bokhonov M.S. *Questions of hepatology. Training manual. [Voprosy hepatologii. Uchebnoye posobiye]*. Sankt-Peterburg; 2016. (In Russian)
16. Delemos A.S., Foureau D.M., Jacobs C., Ahrens W., Russo M.W., Bonkovsky H.L. Drug-induced liver injury with autoimmune features. *Semin Liver Dis*. 2014; 34(2): 194-204.

17. Ortega-Alonso A., Stephens C., Lucena M.I., Andrade R.J. Case characterization, clinical features and risk factors in drug induced liver injury. *Int Mol Sci.* 2016; 17(5): 714.
18. Silivontchik N.N., Adamenka A.I., Bogush L.S. Ademetionine: physiological effects and use in treatment of liver diseases. *Mezhdunarodnye obzory: klinicheskaya praktika i zdorov'e.* 2017; 2(25): 33-49. (In Russian)
19. Mato J.M., Martinez-Chantar M.L., Lu S.C. S-adenosylmethionine metabolism and liver disease. *Ann Hepatol.* 2013; 12: 183-9.
20. Lu S.C., Mato J.M. S-adenosylmethionine in liver health, injury, and cancer. *Physiol Rev.* 2012; 92: 1515-42.
21. Dorovskikh V.A., Simonova N.V., Pereverzev D.I., Shtarberg M.A. Comparative effectiveness of cytoflavin and its constituent components in experimental oxidative stress. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya.* 2017; 80(4): 18-22. (In Russian)
22. Rogovskii V.S., Shimanovskii N.L., Matyushin A.I. Antihypertensive and Neuroprotective Activity of Quercetin and Its Derivatives. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya.* 2012; 75(9): 37-41. (In Russian)
23. Rogovsky V.S., Rosenfeld M.A., Leonova V.B., Konstantinova M.L., Razumovsky S.D., Matyoshin A.I., et al. Dihydroquercetin Inhibits Ozone Oxidation of Fibrinogen. *New Steps in Physical Chemistry, Chemical Physics and Biochemical Physics.* 2012; March: 151-58.

Сведения об авторах:

Охремчук Людмила Васильевна, канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, e-mail: doktor777030371@gmail.com;

Семинский Игорь Жанович, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патологической физиологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России.

© Александрова Н.П., Погонченкова И.В., 2021

УДК 616.13-008.64

Александрова Н.П., Погонченкова И.В.

Действие преформированных физических факторов на реологические свойства крови у больных с хронической постэмболической легочной гипертензией

ГБУЗ «Московский научно-практический центр медицинской реабилитации, восстановительной и спортивной медицины» Департамента здравоохранения города Москвы,
105120, Москва, Россия, ул. Земляной Вал, д. 53

Введение. Основу взаимодействия физических факторов и организма составляют электрические и биоэнергетические процессы, вызывающие изменения показателей центральной и периферической гемодинамики, обменных процессов, трофики, дыхания, реактивности и сопротивляемости организма. К таким физическим факторам, в частности, относятся электромагнитные колебания оптического излучения или фототерапия. **Цель исследования** – оценка эффективности воздействия коротковолнового излучения (фотогемотерапии, ФГТ) и ультрафиолетового (УФ) облучения крови на ее реологические свойства в комплексной терапии больных хронической постэмболической легочной гипертензией (ХПЛГ).

Методика. Проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 64 пациентов (30 женщин и 34 мужчины), поступивших в клинику с симптомами хронической легочной недостаточности, развившейся после перенесенной тромбоэмболии легочной артерии. Больные ХПЛГ были распределены в 3 группы: 1-ю (контрольную) группу составили 15 пациентов, получавшие только базисное лечение; 2-ю (экспериментальную) группу – 26 больных, получавшие базисную терапию в комплексе с ФГТ; 3-ю (экспериментальную) группу – 23 пациента, которые получали базисную терапию в сочетании с воздействием на кровь УФ облучения. Для ФГТ синим светом и УФ воздействия на кровь применяли аппараты АФС-Соларис (Россия) со светодиодами, излучающими синий свет с длиной волны 450 ± 10 нм, и УФ лучи с длиной волны 365 ± 10 нм. Исследовали вязкость крови на ротационном вискозиметре RotoVisco-100 (Нааке GmbH, Германия) в диапазоне скоростей сдвига от 1 до 150 с^{-1} , агрегацию эритроцитов на колориметре-нефелометре ФЭК-56 М (Россия), показатель гематокрита на гематокритной центрифуге (Autocrit, США).

Результаты. У больных 1-й группы после базисного медикаментозного лечения отсутствовали статистически значимые изменения вязкости крови, агрегации эритроцитов и показателя гематокрита. У пациентов как 2-й, так и 3-й группы выявлены статистически значимые изменения реологических свойств крови: снижение вязкости крови, агрегации эритроцитов, показателя гематокрита.

Заключение. Оптическое излучение синего света имеет выраженное физиологическое воздействие: вызывает медленный, но пролонгированный положительный эффект на реологические свойства крови. УФ облучение при воздействии на кровь также способствует улучшению гемореологии и циркуляции крови и активирует рудиментарные механизмы, запускающие адаптационные системы организма, ранее не функционирующие.

Ключевые слова: фотогемотерапия; реология крови; микроциркуляция; оптическое излучение; синий свет

Для цитирования: Александрова Н.П., Погонченкова И.В. Действие преформированных физических факторов на реологические свойства крови у больных хронической постэмболической легочной гипертензией. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(3): 64-72.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.64-72

Участие авторов: концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала – Александрова Н.П., Погонченкова И.В.; статистическая обработка результатов – Александрова Н.П.; написание текста – Александрова Н.П.; редактирование – Погонченкова И.В.

Для корреспонденции: Александрова Наталья Павловна, e-mail: anatalyp@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 20.03.2020

Принята к печати 30.06.2021

Опубликована 30.09.2021

Aleksandrova N.P., Pogonchenkova I.V.

Effects of preformed physical factors on blood rheology in patients with chronic post-embolic pulmonary hypertension

Moscow Centre for Research and Practice in Medical Rehabilitation, Restorative and Sports Medicine,
Zemlyanoi Val St. 53, Moscow 105120, Russian Federation

Introduction. Electrical and bioenergetic processes that cause changes in central and peripheral hemodynamics, metabolic processes, trophism, respiration, reactivity, and body resistance are the basis of interaction between physical factors and the body. Such physical factors include, in particular, electromagnetic oscillations of the optical radiation or phototherapy. **Aim:** to assess the effectiveness of short-wave radiation (photohemotherapy, PHT) and ultraviolet (UV) irradiation of blood on its rheology in the complex treatment of chronic post-embolic pulmonary hypertension (CPPH).

Methods. 64 patients (30 women and 34 men) with symptoms of chronic pulmonary insufficiency secondary to pulmonary embolism underwent a comprehensive clinical and laboratory examination. CPPH patients were divided into 3 groups: the 1st (control) group consisting of 15 patients who received only a basic treatment; the 2nd (experimental) group including 26 patients who received a basic therapy combined with PHT; and the 3rd (experimental) group consisting of 23 patients who received a basic therapy combined with UV irradiation of blood. AFS-Solaris devices (Russia) producing light-emitting diode-derived blue light with a wavelength of 450 ± 10 nm were used for FGT, and UV rays with a wavelength of 365 ± 10 nm were used for the UV exposure of blood. Blood viscosity was measured on a RotoVisco-100 (Haake GmbH, Germany) rotational viscometer at shear rates ranging from 1 to 150 s^{-1} ; erythrocyte aggregation was studied with a FEK-56 M (Russia) colorimeter-nephelometer; and hematocrit was measured with a hematocrit centrifuge (Autocrit, USA).

Results. There were no statistically significant changes in blood viscosity, erythrocyte aggregation, or hematocrit values in the 1st group after the basic treatment. Statistically significant changes in blood rheology parameters observed in both the 2nd and 3rd groups included decreases in blood viscosity, erythrocyte aggregation, and hematocrit values.

Conclusion. Optical irradiation with blue light exerted a pronounced physiological effect evident as a slow but long-standing positive influence on blood rheology parameters. The UV irradiation of blood also improved hemorheology and blood circulation and activated rudimentary mechanisms triggering previously non-functional adaptive systems.

Keywords: photohemotherapy; blood rheology; microcirculation; optical radiation; blue light

For citation: Aleksandrova N.P., Pogonchenkova I.V. Effects of preformed physical factors on blood rheology in patients with chronic post-embolic pulmonary hypertension. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(3) 64-72. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.64-72

Contribution: concept and design of the study, collection and processing of the material – Aleksandrova N.P., Pogonchenkova I.V.; statistical processing – Aleksandrova N.P.; writing the text – Aleksandrova N.P.; editing – Pogonchenkova I.V.

For correspondence: **Natalya P. Aleksandrova**, Doctor of Biological Sciences, Professor, Leading Researcher, Department of Medical Rehabilitation, Moscow Centre for Research and Practice in Medical Rehabilitation, Restorative and Sports Medicine, Zemlyanoi Val St. 53, Moscow 105120, Russian Federation, e-mail: anatalyp@yandex.ru

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

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

Information about the authors:

Aleksandrova N.P., <https://orcid.org/0000-0003-4647-4351>

Pogonchenkova I.V., <https://orcid.org/0000-0001-5123-5991>

Received: 20.03.2020

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

Введение

Реакция организма на воздействие физических факторов обеспечивается различными системами организма и выражается в различных изменениях показателей центральной и периферической гемодинамики, обменных процессов, трофики, дыхания, реактивности и сопротивляемости организма.

Лечебный эффект физического фактора зависит от особенностей распределения его энергии и от фи-

зических свойств тканей-мишеней, осуществляющих поглощение энергии физического фактора. Лечебные физические факторы можно строго дозировать по значительному числу параметров, что способствует оптимальной индивидуализации терапевтических воздействий. К таким физическим факторам, в частности, относятся электромагнитные колебания оптического диапазона или фототерапия.

В последнее время в литературе достаточно активно дискутируются вопросы применения фототерапии (ФГТ) – коротковолнового спектра оптического излучения и ультрафиолетового (УФ) облучения крови как вариант немедикаментозного метода коррекции различных гомеостатических расстройств, сопровождающих многочисленные заболевания и состояния [1–3]. Вариантом фототерапии является фототерапия – воздействие на кровь пациента оптическим излучением экстракорпорально или внутрисосудисто.

В соответствии с синдромно-патогенетической классификацией физических методов лечения по Г.Н. Пономаренко фототерапия относится к органонеспецифическим методам, купирующим преобладающие синдромы заболевания: болевой, воспалительный, интоксикационный, метаболический, дистрофический и иммунной дисфункции [4].

Хроническая постэмболическая легочная гипертензия (ХПЛГ) – это патологическое состояние, обусловленное хронической окклюзией или стенозом легочного артериального русла после тромбоэмболии легочных артерий (ТЭЛА), которое приводит к развитию хронического легочного сердца. Легочная эмболия – частое заболевание: ежегодно регистрируется 35–40 случаев на 100 тыс. человек [5–9].

Постэмболическая хроническая редукция части сосудистого русла легких является инициирующим фактором увеличения общего легочного сопротивления. Вследствие нарушения перфузионно-вентиляционных отношений и падения сердечного выброса развивается артериальная гипоксемия. Адаптационной реакцией организма на хроническую гипоксию является активация эритропоэза с дальнейшим развитием у больных состояния гипервязкости крови и синдрома гемореологических расстройств [10].

Поэтому, несмотря на значительное количество клинических и экспериментальных исследований этиологии и патогенеза ХПЛГ, проблема выбора методов ее лечения вызывает целый ряд затруднений.

Актуальность изучения состояния микро- и макрокродинамики и поиск новых медикаментозных средств для лечения ХПЛГ определяется снижением насосной функции сердечной мышцы, которое имеет часто значительный и необратимый характер и приводит к тяжелой недостаточности кровообращения, причиной которой среди прочих являются и гемореологические нарушения [11].

Однако реологические свойства крови на практике редко рассматриваются при оценке кровообращения, особенно в условиях патологии. Это объясняется тем, что такие изменения во многом определяются гидро-

динамическими факторами и геометрией сосудистого русла, которые для разных его участков неодинаковы. Однако даже общие представления о реологических свойствах крови, направленности их изменений в условиях патологии и применения терапевтических мероприятий могут дать немало для трактовки расстройств кровообращения и оценки механизмов их коррекции.

Ранее проведенные нами исследования показали, что ХПЛГ сопровождается гемореологическими расстройствами, проявляющимися в нарушении структуры кровотока, сгущении крови за счет полицитемии и увеличения количества и размеров циркулирующих эритроцитов [12]. Все это может значительно изменить характеристики кровотока и усугубить течение основного заболевания [13].

В настоящее время ни одно из применяемых для лечения ХПЛГ медикаментозных средств не влияет в должной мере на вязкость крови, величину гематокрита и поведение эритроцитов в потоке. Это объясняется тем, что гемореологические нарушения имеют выраженный инертный характер и весьма трудно поддаются коррекции.

Цель исследования – оценка эффективности воздействия коротковолнового излучения (ФГТ) и УФ облучения крови на ее реологические свойства в комплексной терапии больных ХПЛГ.

Методика

В ГБУЗ «МНПЦ МРВСМ ДЗМ» г. Москвы проведено клинико-лабораторное обследование 64 пациентов (30 женщин и 34 мужчины) с симптомами хронической легочной недостаточности, развившейся после перенесенной тромбоэмболии легочных артерий. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2004) и письменного добровольного информированного согласия всех пациентов. Работа одобрена этической комиссией ГБУЗ. Давность заболевания у всех больных составила от 3 мес до 15 лет (в среднем – 45 мес). Возраст больных составил $47 \pm 6,6$ года. Из сопутствующих заболеваний у 70% пациентов отмечена посттромботическая болезнь нижних конечностей; у 15 человек в анамнезе – операция тромбинтимэктомии из легочной артерии. Ангиографический индекс Миллера у всех больных составил в среднем 19,6 балла (13–30 баллов), сканографический перфузионный дефицит в среднем – 30,3% (16–69%), давление в легочной артерии в среднем – 4 мм рт. ст., систолическое давление в среднем – 73 мм рт. ст.

При поступлении больные были обследованы методами ангиопульмонографии на аппарате Tridoros-

optimatic 1000 (Siemens, ФРГ), перфузионного сканирования легких, которое выполнялось на двухдатчиковом сканере Scintimat-2 (Siemens, ФРГ), электрокардиографии на аппарате Mingograph-81 (Siemens, ФРГ), эхокардиографии на ультразвуковых аппаратах Ecoline-21 (США) и Aloka-28С (Hitachi, Япония).

Больные ХПЛГ были распределены в 3 группы: 1-ю (контрольную) группу составили 15 пациентов, получавшие только базисное лечение; 2-ю (экспериментальную) группу – 26 больных, получавшие базисную терапию в комплексе с ФГТ; 3-ю (экспериментальную) группу – 23 пациента, которые получали базисную терапию в сочетании с воздействием на кровь УФ облучения.

В состав базисной терапии входили нитросорбид, верошпирон, фуросемид, нифедипин, панангин и дезагреганты. В качестве основных антитромбоцитарных препаратов назначали ацетилсалициловую кислоту, пентоксифиллин, простагландин E1; в качестве антикоагулянтов применяли в небольших дозах гепарин, низкомолекулярные гепарины, не требующие постоянного лабораторного мониторинга; реополиглокин; спазмолитики (папаверин, дротаверин).

Для ФГТ синим светом и УФ воздействия на кровь применяли аппарат АФС-Соларис (Россия) со светодиодами, излучающими синий свет с длиной волны 450 ± 10 нм, и УФ лучи с длиной волны 365 ± 10 нм (регистрационное удостоверение № ФСР 2010/08725 от 30.08.2010). Волоконно-оптические насадки вводили в локтевую вену пациента; мощность на конце световодов составляла 1,0–1,5 мВт. Воздействие продолжалось 30 мин, проводилось через день и в целом составляло 7 процедур.

Для исследования реологических свойств крови использовали комплекс общепринятых методов: вязкость крови измеряли на ротационном вискозиметре Rotovisco-100 (Нааке, Германия) в диапазоне скоростей сдвига от 1 до 150 с^{-1} , что соответствовало условиям венозного и артериального кровотока; агрегацию эритроцитов определяли на колориметре-нефелометре ФЭК-56 М (Россия); показатель гематокрита измеряли на гематокритной центрифуге (Autocrit, США).

Итоговые данные анализировали отдельно для мужчин и для женщин, так как физиологические значения гематокрита и гемоглобина имеют гендерные различия: в норме женщины имеют более низкий уровень гематокрита и, соответственно, более низкую вязкость крови, чем мужчины. Для определения нормальных значений реологических свойств крови было обследовано 15 практически здоровых лиц (7 женщин и 8 мужчин; возраст – $32 \pm 6,3$).

Статистический анализ данных осуществляли посредством статистического пакета Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США) с соблюдением принципов и требований к статистической обработке материала в биологических и медицинских исследованиях. Для анализа соответствия вида распределения признака закону нормального распределения применяли критерий Шапиро-Уилка. Для описания количественных данных использовали среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего (m). Различия в соответствии с критериями Стьюдента считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования при изучении гемореологического статуса при поступлении в стационар у всех больных ХПЛГ до лечения установлены выраженные нарушения реологических свойств крови (табл. 1, 2).

Как следует из представленных в табл. 1 данных, у мужчин – пациентов с ХПЛГ все вязкостные параметры значительно превышали нормальные: структурная вязкость – на 42%, динамическая – на 32% и на 28%, соответственно. Величина гематокрита превышала нормальные значения на 14%, а агрегация эритроцитов – на 58%.

У женщин (табл. 2) структурная вязкость крови превышала нормальную в среднем на 36%, динамическая – на 30% и на 24%, соответственно; показатель гематокрита также как у мужчин, был повышен на 14%, агрегация эритроцитов – на 51%.

Анализ степени участия каждого отдельного гемореологического показателя в повышении вязкости крови, обуславливающего в целом текучесть крови при ХПЛГ, выявил, что доминирующими параметрами, влияющими на рост вязкости крови при данном заболевании, являются повышенный показатель гематокрита и усиленная агрегация эритроцитов. Полицитемия у больных ХПЛГ является ответной реакцией организма на хроническое кислородное голодание и тем более опасна для данной категории больных, что значительно возросшее у них в кровотоке количество агрегированных эритроцитов может вызвать их секвестрацию в селезенке, печени и в легких, что сопровождается еще большим дефицитом кислорода в органах и тканях.

Хроническая легочная недостаточность любого генеза (эмфизема, фиброз, хронический бронхит, эмболия легочной артерии и др.) неизбежно вызывает гемореологические нарушения, которые запускаются специфическими механизмами, обуславливающими

ми многофакторность патогенеза ХПЛГ. Поэтому гемореологические расстройства носят такой же устойчивый, инертный и хронический характер, как и само заболевание ХПЛГ, и зависят от того, в какой степени активности на момент исследования находятся те специфические механизмы, которые спровоцировали эти нарушения.

В частности, между вязкостью крови и значением показателей легочной артериальной гемодинамики существует тесная взаимосвязь. Повышение вязкости крови у больных ХПЛГ происходит соразмерно увеличению сосудистого сопротивления и росту легочного артериального давления. Подтверждением сказанному является ранее проведенный в этом направлении корреляционный анализ, который показал наличие тесных корреляционных связей: между вязкостью крови и величиной перфузионного дефицита у больных

ХПЛГ ($r = 0,653$), между вязкостью и параметрами легочного сосудистого сопротивления ($r = 0,742$), между вязкостью и средним давлением в легочной артерии ($r = 0,751$), между вязкостью и сердечным индексом ($r = 0,548$) и наличие слабой корреляционной связи ($r = 0,243$) с длительностью заболевания ($p < 0,05$) [14]. Поэтому синдром гипервязкости крови при ХПЛГ помимо собственно реологических факторов, определяющих данный показатель, в еще большей степени обусловлен объемом поражения сосудов легких и в меньшей степени – длительностью заболевания.

На следующем этапе исследования определяли реологический статус больных ХПЛГ по группам. У больных 1-й группы, которые получали только базисную медикаментозную терапию, после лечения отсутствовали существенные изменения изученных параметров по сравнению с показателями до лечения (табл. 3).

Таблица 1/Table 1

Реологические характеристики крови у мужчин с хронической постэмболической легочной гипертензией, (M ± m)

Blood rheological characteristics in men with chronic post-embolic pulmonary hypertension, (M ± m)

Группы обследованных	Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 1 с ⁻¹	Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 9 с ⁻¹	Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 150 с ⁻¹	Показатель гематокрита (%)	Агрегация эритроцитов (%)
1-я группа (n = 8)	28,6 ± 3,1*	8,35 ± 0,24*	4,37 ± 0,19*	50,0 ± 1,12*	54,9 ± 3,8*
2-я группа (n = 14)	26,9 ± 2,4*	8,49 ± 0,32*	4,41 ± 0,11*	49,4 ± 1,32*	57,7 ± 4,5*
3-я группа (n = 12)	27,2 ± 2,7*	8,47 ± 0,22*	4,29 ± 0,21*	48,9 ± 1,02*	53,4 ± 4,7*
Нормальные значения (n = 8)	19,4 ± 1,2	6,4 ± 0,2	3,4 ± 0,1	43,3 ± 0,01	34,9 ± 1,5

Примечание. * – $p < 0,05$ – различия статистически значимы по сравнению с нормальными значениями.

Note. * – $p < 0.05$ – the differences are statistically significant compared to normal values.

Таблица 2/Table 2

Реологические характеристики крови у женщин с хронической постэмболической легочной гипертензией, (M ± m)

Blood rheological characteristics in women with chronic postembolic pulmonary hypertension, (M ± m)

Группы обследованных	Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 1 с ⁻¹	Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 9 с ⁻¹	Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 150 с ⁻¹	Показатель гематокрита (%)	Агрегация эритроцитов (%)
1-я группа (n = 7)	23,8 ± 2,2*	7,7 ± 0,2*	3,9 ± 0,3*	45,6 ± 1,1*	46,5 ± 1,8*
2-я группа (n = 12)	25,1 ± 1,3*	7,2 ± 0,1*	3,7 ± 0,5*	45,5 ± 1,1*	48,5 ± 2,3*
3-я группа (n = 11)	24,9 ± 2,5*	7,43 ± 0,15*	3,9 ± 0,2*	45,8 ± 1,2*	49,9 ± 3,3*
Нормальные значения (n = 7)	18,1 ± 1,1	5,7 ± 0,1	3,1 ± 0,1	41,2 ± 0,01	32,5 ± 1,3

Примечание. * – $p < 0,05$ – различия статистически значимы по сравнению с нормальными значениями.

Note. * – $p < 0.05$ – the differences are statistically significant compared to normal values.

В то же время следует отметить некоторую тенденцию к снижению агрегации эритроцитов у больных этой группы под действием пентоксифилина и аспирина, которые больные получали в качестве антиагрегантов.

Несколько иная картина выявлена в параметрах гемореологии у больных ХПЛГ 2-й и 3-й эксперимен-

тальных групп после базисного лечения в сочетании с ФГТ и УФ облучением крови (табл. 4, 5).

Так у пациентов ХПЛГ 2-й группы, как у мужчин, так и у женщин, после базисной терапии в сочетании с оптическим излучением синего света было установлено статистически значимое снижение вязкостных

Таблица 3/Table 3

Реологические характеристики крови у больных хронической постэмболической легочной гипертензией 1-й (контрольной) группы до и после курса базисной медикаментозной терапии, ($M \pm m$)

Blood rheological characteristics in patients with chronic post-embolic pulmonary hypertension of the 1st (control group) before and after the course of basic therapy, ($M \pm m$)

Группы обследованных	Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 1 с ⁻¹		Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 9 с ⁻¹		Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 150 с ⁻¹		Показатель гематокрита (%)		Агрегация эритроцитов (%)	
	до	после	до	после	до	после	до	после	до	после
	лечения		лечения		лечения		лечения		лечения	
Мужчины:										
1-я группа (n = 8)	28,6 ± 3,1	27,8 ± 2,7	8,35 ± 0,24*	8,12 ± 0,11*	4,37 ± 0,19	4,03 ± 0,12	50,0 ± 1,1*	49,2 ± 1,1*	45,6 ± 1,09	40,1 ± 1,06
Нормальные значения (n = 8)	19,4 ± 1,2		6,4 ± 0,2		3,4 ± 0,1		43,30 ± 0,01		34,9 ± 1,5	
Женщины:										
1-я группа (n = 7)	21,8 ± 2,2	20,3 ± 1,6	7,7 ± 0,2	7,6 ± 0,3	3,9 ± 0,3	3,8 ± 0,2	45,6 ± 1,1	45,0 ± 1,1	42,5 ± 1,8	39,3 ± 1,3
Нормальные значения (n = 7)	18,1 ± 1,1		5,7 ± 0,1		3,1 ± 0,1		41,20 ± 0,01		32,5 ± 1,3	

Примечание. * – $p < 0,05$ – различия статистически значимы по сравнению с исходными (до лечения) значениями.

Note. * – $p < 0.05$ – the differences are statistically significant compared to baseline values (before therapy).

Таблица 4/Table 4

Реологические характеристики крови у больных хронической постэмболической легочной гипертензией 2-й (экспериментальной) группы до и после курса базисной терапии в сочетании с фототерапией синим светом, ($M \pm m$)

Blood rheological characteristics in patients with chronic postembolic pulmonary hypertension of the 2nd (experimental) group before and after the course of basic therapy combined with blue light photogemotherapy, ($M \pm m$)

Группы обследованных	Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 1 с ⁻¹		Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 9 с ⁻¹		Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 150 с ⁻¹		Показатель гематокрита (%)		Агрегация эритроцитов (%)	
	до	после	до	после	до	после	до	после	до	после
	лечения		лечения		лечения		лечения		лечения	
Мужчины:										
2-я группа (n = 14)	26,9 ± 2,4	23,5 ± 1,8*	8,49 ± 0,32	7,27 ± 0,22*	4,41 ± 0,11	3,74 ± 0,21*	49,40 ± 1,32	46,90 ± 1,12	57,7 ± 4,5	48,2 ± 4,5
Нормальные значения (n = 8)	19,4 ± 1,2		6,4 ± 0,2		3,4 ± 0,1		43,30 ± 0,01		34,9 ± 1,5	
Женщины:										
2-я группа (n = 12)	25,1 ± 1,3	22,3 ± 2,2*	7,21 ± 0,11	6,13 ± 0,21*	3,74 ± 0,50	3,34 ± 0,22*	45,50 ± 1,07	43,10 ± 1,12	41,9 ± 3,3	32,8 ± 2,1*
Нормальные значения (n = 7)	18,1 ± 1,1		5,7 ± 0,1		3,1 ± 0,1		41,20 ± 0,01		32,5 ± 1,3	

Примечание. * – $p < 0,05$ – различия статистически значимы по сравнению с исходными (до лечения) значениями.

Note. * – $p < 0.05$ – the differences are statistically significant compared to baseline values (before therapy).

параметров крови при всех скоростях сдвига, соответствующих различным уровням артериального и венозного кровообращения. Вязкость крови у мужчин снизилась на 13–15%, агрегация эритроцитов – на 17%, показатель гематокрита – на 5%. У женщин после ФГТ все вязкостные параметры снизились на 11–15%; агрегация эритроцитов – на 22%, показатель гематокрита – на 5%.

Таким образом, применение ФГТ в комплексной терапии больных ХПЛГ продемонстрировало значимую эффективность воздействия коротковолнового излучения синего света на реологический статус больных с данным заболеванием.

Анализ результатов, полученных у больных ХПЛГ 3-й группы, которым в комплексе с базисной терапией проводили УФ облучение крови, продемонстрировал изменения ее реологических свойств, аналогичные тем, что были получены во 2-й группе пациентов (табл. 5).

Также, как и во 2-й группе больных ХПЛГ, которым в комплексе с базисной терапией проводили ФГТ синим светом, у пациентов 3-й группы, у которых осуществлялось УФ облучение крови, вязкостные показатели при всех скоростях сдвига, отражающие характеристики кровотока в артериальном и венозном звене кровообращения, снизились в среднем на 12–17% как у мужчин, так и у женщин. Также существенно снизилась агрегация эритроцитов: у мужчин – на 9%, у женщин – на 11%. В отличие от ФГТ, после УФ об-

лучения крови показатель гематокрита возрос у мужчин 3-й группы на 4%, а у женщин – на 3%, что свидетельствовало об умеренной вторичной полицитемии.

Последнее обстоятельство объясняется тем, что одним из механизмов воздействия УФ лучей на организм является стимуляция эритропоэза и, как следствие, повышение количества циркулирующих эритроцитов. Этим же можно объяснить меньшую эффективность воздействия УФ облучения на все вязкостные показатели у больных 3-й группы по сравнению с действием ФГТ у пациентов 2-й группы.

Нужно отметить тот факт, что даже при высокой эффективности воздействия оптического излучения синего света и УФ облучения на кровь гемореологические показатели у больных ХПЛГ так и не достигали физиологической нормы. Данное обстоятельство объясняется спецификой патологического процесса, лежащего в основе гемореологических нарушений при данном заболевании.

Известно, что повышенная вязкость крови вызывает гипертрофию миокарда и повышает риск развития заболеваний сердца [15]. В условиях ХПЛГ это имеет большое значение. В соответствии с законом Пуазейля–Хагена коронарный кровоток снижается по мере увеличения вязкости крови. Снижая вязкость крови у больных ХПЛГ с помощью ФГТ и УФ облучения крови в комплексе с общепринятой терапией, можно добиться уменьшения легочной гипертензии

Таблица 5/Table 5

Реологические характеристики крови у больных хронической постэмболической легочной гипертензией 3-й (экспериментальной) группы до и после курса базисной терапии в сочетании с ультрафиолетовым облучением, (M ± m)

Blood rheological characteristics in patients with chronic postembolic pulmonary hypertension of the 3rd (experimental) group before and after the course of basic therapy combined with ultraviolet irradiation, (M ± m)

Группы обследованных	Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 1 с ⁻¹		Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 9 с ⁻¹		Вязкость крови (сП) при скорости сдвига 150 с ⁻¹		Показатель гематокрита (%)		Агрегация эритроцитов (%)	
	до	после	до	после	до	после	до	после	до	после
	лечения		лечения		лечения		лечения		лечения	
Мужчины:										
3-я группа (n = 12)	27,2 ± 2,7*	23,5 ± 1,5*	8,47 ± 0,22*	7,02 ± 0,17*	4,29 ± 0,21*	3,81 ± 0,30*	48,90 ± 1,02*	50,80 ± 1,11*	53,4 ± 4,7*	48,8 ± 4,9*
Нормальные значения (n = 8)	19,4 ± 1,2		6,4 ± 0,2		3,4 ± 0,1		43,30 ± 0,01		34,9 ± 1,5	
Женщины:										
3-я группа (n = 11)	22,9 ± 2,5*	20,1 ± 1,6*	7,43 ± 0,15	6,91 ± 0,21	3,92 ± 0,20	3,46 ± 0,18	48,9 ± 1,02*	50,20 ± 1,01*	41,9 ± 3,3	37,5 ± 2,8
Нормальные значения (n = 7)	18,06 ± 1,1		5,7 ± 0,1		3,1 ± 0,1		41,20 ± 0,01		32,5 ± 1,3	

Примечание. * – p<0,05 – различия статистически значимы по сравнению с исходными (до лечения) значениями.

Note. * – p<0.05 – the differences are statistically significant compared to baseline values (before therapy).

и понижения сосудистого сопротивления. По данным А.М. Eaton с соавт., редукция вязкости крови приводит к снижению легочного сосудистого сопротивления на 41% и падению давления в легочной артерии на 44% [16]. Оптическое излучение синего диапазона в целом способствует обеспечению и регуляции жизненно важных функций организма [17].

Заключение

Оценивая терапевтическую эффективность синего света и УФ воздействия на систему крови и кровообращение, можно предположить, что оптическое излучение синего света имеет более выраженное физиологическое действие, проявляющееся в его стойком, пролонгированном положительном эффекте на данные системы. УФ облучение при воздействии на кровь также способствует улучшению гемореологии и циркуляции крови и активирует рудиментарные механизмы, запускающие адаптационные системы организма, ранее не функционирующие.

Литература

(п.п. 2; 15; 16 см. References)

- Карандашов В.И. Особенности оптического излучения в синем диапазоне спектра и перспективы использования его в практической медицине. *Лазерная медицина*. 2013; 17(2): 49–5.
- Масляков В.В., Суханова О.А., Барсуков В.Г., Куркин К.Г., Суханов С.А. Возможности коррекции реологических свойств крови при колото-резанных ранениях груди (краткое сообщение). *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2017; 61(2): 72–5.
- Пономаренко Г.Н. *Физические методы лечения: Справочник*. 4-е изд., перераб. и доп. СПб.; ВМедА; 2011.
- Шостак Н.А., Кириенко А.И., Рябкова А.А., Бабадаева Н.М., Леонтьев С.Г. Легочная гипертензия как междисциплинарная проблема. *Лечебное дело*. 2005; (1): 17–24.
- Клименко А.А., Шостак Н.А., Демидова Н.А., Новиков И.В. Хроническая постэмболическая легочная гипертензия: новые аспекты формирования и прогрессирования заболевания. *Клиницист*. 2011; (1): 14–8.
- Илюхин Е.А., Золотухин И.А. Современное состояние проблемы профилактики рецидивов венозных тромбоэмболических осложнений. *Флебология*. 2017; 11(2): 83–90.
- Чазова И.Е., Архипова О.А., Мартынюк Т.В. Легочная артериальная гипертензия в России: анализ 5-летнего наблюдения по данным Национального регистра. *Терапевтический архив*. 2019; 91(1): 10–31.
- Филиппов Е.В. Легочная гипертензия: взгляд из прошлого в настоящее. *РМЖ «Мед. Обзорение»*. 2019; 10 от 31.10.2019: 27–32.
- Филатова Е.А., Войцеховский В.В., Григоренко А.А. Особенности эндобронхиальной микрогемодиализации у больных истинной полицитемией. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2013; (47): 55–8.
- Левичева Е.Н., Каменская О.В., Логинова И.Ю., Клинкава А.С., Булатецкая Л.М. Резервные возможности микроциркуляторного кровотока периферических тканей при циркуляторной гипоксии. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2012; 11(3): 34–8.
- Петухов Е.Б., Матюшенко А.А., Корнеев А.А., Александрова Н.П., Березов В.П., Малютин И.Г. Коррекция гипервязкости крови у больных хронической постэмболической легочной гипертензией методом инфузий УФ-облученной аутокрови. *Грудная и сердечно-сосудистая хирургия*. 1990; (10): 34–7.
- Клименко Н.А., Ракша А.П., Демидова Н.А., Шостак Н.А. Патогенез и патоморфология хронической постэмболической легочной гипертензии. *Лечебное дело*. 2011; (3): 95–105.
- Карандашов В.И., Петухов Е.Б. *Ультрафиолетовое облучение крови*. М.; Медицина, 1997.
- Карандашов В.И., Петухов Е.Б., Зродников В.С. *Квантовая терапия*. М.; Медицина, 2004.

References

- Karandashov V.I. Peculiarities of optic irradiation in the blue range of spectrum and perspectives of its application in practical medicine. *Lazernaya meditsina*. 2013; 17(2): 49–55. (in Russian)
- Garsa Z.C.F., Born M., Hiblers P.A.J., van Riel N.A.W., Liebmann J. Visible blue light therapy: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Cur Med Chem*. 2018; 25(40): 5564–77. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170727112206>
- Maslyakov V.V., Sukhanova O. A., Barsukov V.G., Kurkin K.G., Sukhanov S.A. Possibilities of correction of rheological properties of blood in stab wounds of the chest (brief report). *Patologicheskaya Fizjologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2017; 61(2): 72–5. (in Russian)
- Ponomarenko G.N. *Physical therapies: a handbook*. 2nd ed., revised and add. [Fizicheskie metody lecheniya: Spravochnik. 2-e izd., pererab. i dop]. Saint Petersburg; Voenno-meditsinskaya akademiya; 2011. (in Russian)
- Shostak N.A., Kirienko A.I., Ryabkova A.A., Babadaeva N.M., Leontiev S.G. Pulmonary hypertension as an interdisciplinary problem. *Lechebnoe delo*. 2005; (1): 17–24. (in Russian)
- Klimenko A.A., Shostak N.A., Demidova N.A., Novikov I.V. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension: new aspects of the development and progression of the disease. *Klinitsist*. 2011; (1): 14–7. (in Russian)
- Ilyukhin E. A., Zolotukhin I. A. Current state of the problem of prevention of relapses of venous thromboembolic complications. *Flebologiya*. 2017; 11(2): 83–90. (in Russian)
- Chazova I.E., Arkhipova O.A., Martynuk T.V. Pulmonary arterial hypertension in Russia: analysis of 5-year observation according to the National Register. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2019; 91(1): 10–31. (in Russian)
- Filippov E.V. *Pulmonary hypertension: a look from the past to the present. Breast cancer "Med. Review"*. [Legochnaya gipertenzija: vzglyad iz proshlogo v nastoyashchee. RMZH «Med. Obzorzenie»]. 2019; 10 of 31.10.2019: 27–32. (in Russian)
- Filatova E.A., Voytsekhovskiy V.V., Grigorenko A.A. Regularities of endobronchial microcirculation in patients with polycythemia vera. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*. 2013; (47): 55–8. (in Russian)
- Levicheva E.N., Kamenskaya O.V., Loginova I.Yu., Klinkova A.S., Bulatetskaya L.M. Reserve capacities of microcirculatory blood flow in peripheral tissues in circulatory hypoxia. *Regionarное krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya*. 2012; 11(3): 34–8. (in Russian)

12. Petukhov E.B., Matyushenko A.A., Korneev A.A., Alexandrova N.P., Berezov V.P., Malyutina I.G. Correction of blood hyperviscosity in patients with chronic postembolic pulmonary hypertension by infusion of UV-irradiated autologous blood. *Grudnaya i serdechno-sosudistaya khirurgiya*. 1990; (10): 34–7. (in Russian)
13. Klimenko N.A., Raksha A.P., Demidova N.A., Shostak N.A. Pathogenesis and pathomorphology of chronic postembolic pulmonary hypertension. *Lechebnoe delo*. 2011; (3): 95–105. (in Russian)
14. Karandashov V.I., Petukhov E.B. *Ultraviolet irradiation of blood. [Ul'trafiolietovoe obluchenie krovi]*. Moscow; Meditsina, 1997. (in Russian)
15. Devereux R.B., Drayer J.I., Chien S., Pickering T.G., Letcher R.L., DeYoung J.L., et al. Whole blood viscosity as a determinant of cardiac hypertension. *Am J Cardiol*. 1984; 54(6): 592–5. [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(84\)90255-8](https://doi.org/10.1016/0002-9149(84)90255-8)
16. Eaton A.M., Serota H., Kernodle G.W., Uglietta J.P., Crawford J., Fulkerson W.J. Pulmonary hypertension secondary to serum hyperviscosity in a patient with rheumatoid arthritis. *Am J Med*. 1987; 82(5): 1039–45. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(87\)90172-0](https://doi.org/10.1016/0002-9343(87)90172-0)
17. Karandashov V.I., Petukhov E.B., Zrodnikov V.S. *Quantum therapy. [Kvantovaya terapiya]*. Moscow; Meditsina, 2004. (in Russian)

Сведения об авторах:

Александрова Наталья Павловна, доктор биол. наук, проф., вед. науч. сотр. отдела медицинской реабилитации ГБУЗ города Москвы «Московский научно-практический центр медицинской реабилитации, восстановительной и спортивной медицины» Департамента здравоохранения города Москвы, e-mail: anatalyp@yandex.ru;

Погонченкова Ирина Владимировна, доктор мед. наук, гл. внештатный специалист по медицинской реабилитации и санаторно-курортному лечению, директор ГАУЗ «Московский научно-практический центр медицинской реабилитации, восстановительной и спортивной медицины» Департамента здравоохранения города Москвы.

© Коллектив авторов, 2021

УДК 615.847.8.03.015.4.076.9

Терехина Н.А.¹, Селин А.Д.¹, Терехин Г.А.²

Влияние электромагнитного излучения на показатели антиоксидантной защиты в эритроцитах и плазме крови крыс

¹ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России, 614990, Пермь, Россия, Петропавловская ул., д. 26;

²ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, 614089, Пермь, Россия, Полевая ул., д. 2

Цель исследования – изучение влияния электромагнитного излучения дециметрового диапазона на показатели антиоксидантной защиты в эритроцитах и плазме крови крыс.

Методика. Эксперименты выполнены на крысах находившихся под влиянием электромагнитного поля дециметрового диапазона в течение 3-х мес. Проведен хемилюминесцентный анализ эритроцитов и плазмы крови животных. Интенсивность свободно радикального окисления в эритроцитах и плазме крови оценивали по показателям: максимальной интенсивности хемилюминесценции (Imax); светосуммы (S); светосуммы после максимального значения хемилюминесценции S(imax); коэффициентам ZImax и Dec. Спектрофотометрически определяли содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах. В плазме крови определяли содержание церулоплазмينا, меди и железа. Анализ этих показателей был проведен в динамике исследования через 30, 60 и 90 сут.

Результаты. Длительное (в течение 3 мес) нахождение животных в условиях действия электромагнитного поля приводит к изменениям показателей хемилюминесценции эритроцитов. Изменение показателей Imax, S, S(imax) свидетельствует о нарушении процессов свободнорадикального окисления. В эритроцитах периферической крови крыс при этом установлено повышение содержания глутатиона. В плазме крови выявлено увеличение концентрации церулоплазмينا и меди, снижение содержания железа.

Заключение. Длительное нахождение животных в условиях действия электромагнитного поля приводит к нарушению равновесия в прооксидантно-антиоксидантной системе в эритроцитах. Антиоксиданты глутатион и церулоплазмин являются мишенью для действия электромагнитного излучения дециметрового диапазона. Установлено влияние длительного электромагнитного излучения на показатели минерального обмена: снижение содержания железа и увеличение содержания меди в плазме крови.

Ключевые слова: электромагнитное излучение; антиоксидантная защита; глутатион; церулоплазмин; железо; медь

Для цитирования: Терехина Н.А., Селин А.Д., Терехин Г.А. Влияние электромагнитного излучения на показатели антиоксидантной защиты в эритроцитах и плазме крови крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(3): 73-79.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.73-79

Участие авторов: концепция и дизайн исследования, редактирование статьи – Терехина Н.А.; сбор и обработка материала – Селин А.Д., Терехин Г.А.; написание статьи и статистическая обработка результатов исследования – Терехина Н.А., Селин А.Д. Утверждение окончательного варианта статьи – все авторы.

Для корреспонденции: Терехина Наталья Александровна, e-mail: terekhina@list.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 28.05.2021

Принята к печати 30.06.2021

Опубликована 30.09.2021

Terekhina N.A.¹, Selin A.D.¹, Terekhin G.A.²

The effect of electromagnetic radiation on indexes of antioxidant defense in rat erythrocytes and blood plasma

¹E.A. Vagner Perm State Medical University, Petropavlovskaya St. 26, Perm 614990, Russian Federation;

²Perm State Pharmaceutical Academy, Polevaya St. 2, Perm 614089, Russian Federation

The aim of the research was to study the effect of decimeter-range electromagnetic radiation on indexes of antioxidant defense in rat erythrocytes and blood plasma.

Methods. Experiments were performed on rats exposed to decimeter-range electromagnetic field for three mos. Chemiluminescent analysis of erythrocytes and blood plasma was performed. Intensity of free-radical oxidation in erythrocytes and plasma was

evaluated by parameters of maximum chemiluminescence intensity (I_{max}), light sum (S), the light sum after the maximum chemiluminescence value (i_{max}), and ZI_{max} and Dec coefficients. The content of reduced glutathione in peripheral blood erythrocytes and the plasma contents of ceruloplasmin, iron and copper were measured spectrophotometrically at 30, 60, and 90 days.

Results. A long-term exposure of animals to the electromagnetic field for 3 mos. led to changes in chemiluminescent parameters of erythrocytes. The changes in I_{max} , S , and $Simax$ indicated impairment of free-radical oxidation processes. The content of glutathione was increased in peripheral blood erythrocytes. The plasma contents of ceruloplasmin and copper were increased whereas the content of iron was decreased.

Conclusion. The long-term exposure of animals to the electromagnetic field results in an imbalance of the erythrocyte pro-/antioxidant system. The antioxidants glutathione and ceruloplasmin are targets for the decimeter-range electromagnetic radiation. The study demonstrated the effect of long-term electromagnetic radiation on indexes of mineral metabolism evident as a decrease in the content of iron and an increase in the content of copper in the blood plasma.

Keywords: electromagnetic radiation antioxidant defense; glutathione; ceruloplasmin; iron; copper

For citation: Terekhina N.A., Selin A.D., Terekhin G.A. The effect of electromagnetic radiation on indexes of antioxidant defense in rat erythrocytes and blood plasma. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(3): 73-79. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.73-79

Contribution. The concept and design of the study, editing – Terekhina N.A.; collection and processing of material – Selin A.D., Terekhin G.A.; text writing, statistical processing – Terekhina N.A., Selin A.D. Approval of the final version of the article – all co-authors.

For correspondence: **Terekhina Natalya Aleksandrovna**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Biochemistry Department, Perm State Medical University named after academician E.A. Vagner, 26, Petropavlovskaya Str, 614990, Perm, Russian Federation, e-mail: terekhina@list.ru

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

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

Information about the authors:

Terekhina N.A., <https://orcid.org/0000-0002-0168-3785>

Received: 28.05.2021

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

Введение

Электромагнитное загрязнение окружающей среды – новый экологический фактор риска, который оказывает негативное влияние на деятельность всех органов и систем [1–3]. Наиболее весомый вклад в формирование электромагнитной нагрузки на население приходится на долю мобильных телефонов (МТ). В условиях длительного пребывания в новой техногенной среде человеческий организм вынужден адаптироваться к изменяющимся условиям. Присутствие в организме электромагнитной системы гомеостаза определяет нормальное протекание и регуляцию биохимических и физиологических процессов [4], а чрезмерное использование МТ может способствовать нарушениям в электромагнитной системе гомеостаза [5] и являться фактором риска развития многих заболеваний [6, 7]. Нахождение живых клеток в условиях действия электромагнитного поля (ЭМП) способствует интенсификации образования свободных радикалов, изменению активности антиоксидантных ферментов [8–11]. Антиоксидантная система (АОС) является основным регулирующим звеном в защите от действия свобод-

норадикальных метаболитов. В эксперименте на животных установлено, что электромагнитное излучение (ЭМИ) в диапазоне крайне высоких частот (53,57–78,33 ГГц) способствует ингибированию перекисного окисления липидов посредством увеличения антиоксидантного статуса крови в послеоперационном периоде [12]. Для наиболее полного выяснения влияния ЭМИ, исходящего от МТ, необходимым является понимание молекулярных механизмов защиты клеток. В реальной ситуации ЭМИ взаимодействует с различными факторами окружающей среды, которые могут ослаблять или усиливать его действие. Для достоверной оценки влияния ЭМИ на организм необходимо проводить экспериментальные исследования с использованием однофакторных моделей, качественные и количественные параметры которых максимально приближены к реальным условиям.

Цель исследования – оценка влияния электромагнитного излучения дециметрового диапазона на показатели антиоксидантной защиты в эритроцитах и плазме крови крыс.

Методика

Исследование проведено в соответствии с международными требованиями к проведению работ с экспериментальными животными, с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕСС) и Хельсинкской декларации. Работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПГМУ им. Акад. Е.А. Вагнера» МЗ РФ (протокол № 2 от 26 февраля 2020).

В эксперименте использовано 80 белых нелинейных крыс массой 150-220 г, содержащихся на смешанном сбалансированном рационе со свободным доступом к воде. Животные были разделены на 2 группы: 1-я – (контроль) интактные животные ($n=20$) находились в помещении вивария, 2-я – крысы опытной группы ($n=60$) были размещены в другом помещении, где в течение 3 мес находились под действием электромагнитного поля (ЭМП) дециметрового диапазона. Для имитации реальной ситуации с частым воздействием электромагнитных полей на организм человека, (излучение МТ в режиме ожидания), была спроектирована модель облучения на животных. Расчёт фоновых значений плотности потока электромагнитной энергии производили с помощью измерителя (ПЗ-33М) согласно санитарно-эпидемиологическим требованиям к физическим факторам на рабочих местах (СанПиН 2.2.4.3359-16). Фоновые значения составляли не более $0,1 \text{ мкВт/см}^2$. ЭМП создавали с помощью шести МТ распространенной марки «Nokia» с несущей частотой 1745 МГц. Для достижения равномерного распределения электромагнитной нагрузки в течение продолжительного периода была использована программа «Auto Redial». С помощью данной программы одновременно производились звонки на МТ, которые создавали следующие условия облучения животных: несущая частота 1745 МГц, 170 мин/день, фракциями по 30 с в режиме дозона с интервалом в 4 мин. На протяжении всего эксперимента животные находились в клетках, изготовленных из радиопрозрачного материала (полиметилметакрилата), по 10 особей в одной клетке. МТ располагались на специальных подставках по ширине клетки, с каждой стороны по 3 телефона на расстоянии 5 см от клетки. В зависимости от удаленности антенны МТ плотность потока электромагнитной энергии в клетке составляла в среднем $67,0 \pm 5,0 \text{ мкВт/см}^2$ с экспозицией 170 мин, что соответствует предельно допустимому уровню энергетических экспозиций $200 \text{ мкВт/см}^2/\text{ч}$ для данного диапазона частот. По истечению срока облучения животных выводили из эксперимента декапацией под эфирным наркозом.

Забор крови производили в вакуумные пробирки «Improvacuter» с гепарином. Центрифугировали кровь при 3000 об/мин в течение 10 мин. После удаления плазмы крови в пробирку с оставшейся эритроцитарной массой добавляли физиологический раствор. Процедуру отмывания эритроцитов повторяли трижды. Эритроцит – это доступный объект, которому присущи общие принципы молекулярной организации мембранных структур различных органов и тканей [13, 14]. Состояние биологической мембраны эритроцита является одним из важных факторов регуляции гомеостатических параметров и обеспечения биохимических и физиологических процессов в организме, поэтому для оценки интенсивности процессов образования свободнорадикальных метаболитов использовали хемилюминесцентный анализ эритроцитов и плазмы крови с помощью биохемилюминометра БХЛ-07 (Россия) по методу [15]. Интенсивность протекания СРО в эритроцитах и плазме крови оценивали по 8 показателям: I_{max} – максимальная интенсивность ХЛ, S – светосумма, $Simax$ – светосумма после максимального значения ХЛ, коэффициенты Z_{max} и Dec . Для оценки антиоксидантного потенциала (АОП) эритроцитарных мембран и плазмы крови использовали значения показателя $tg2$, и коэффициенты a и Z . Уровень восстановленного глутатиона в эритроцитах периферической крови крыс определяли спектрофотометрически по методу [16]. В плазме крови изучали содержание церулоплазмينا по методу [17]. Анализ этих показателей проводился в динамике исследования через 30, 60 и 90 сут. Содержание меди в плазме крови определяли с помощью набора реактивов «Медь-Витал» (Санкт-Петербург), уровень железа с помощью набора реактивов «Вектор-Бест» (Новосибирск) на спектрофотометре PD-303 (ApeL, Япония).

Статистическую обработку результатов проводили с применением методов вариационной статистики в программах Statistica 10.0 (StatSoft, США) и Microsoft Excel. Оценку значимости различий проводили с помощью t -критерия Стьюдента, данные представлены как $M \pm m$. Используемый уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты

При проведении ХЛ анализа из 8 показателей наиболее информативными оказались 4: I_{max} , S , $Simax$ и $tg2$. Были установлены изменения в интенсивности протекания свободнорадикальных процессов в эритроцитах: снижение максимальной интенсивности хемилюминесценции эритроцитов (I_{max}) в 2 раза, светосуммы (S) в 3 раза, светосуммы после максимального значения хемилюминесценции ($Simax$) в 2,5 раза

по сравнению с контролем – группой интактных животных (табл. 1). Вместе с тем установлено статистически значимое увеличение в 2 раза показателя tg2, отражающего антиоксидантный потенциал крови, по сравнению с группой интактных животных. Снижение показателей I_{max}, S, S_{imax} свидетельствует о снижении процессов свободнорадикального окисления. В плазме крови животных опытной группы статистически значимых изменений выявлено не было (табл. 1).

Для оценки состояния антиоксидантной защиты в эритроцитах периферической крови крыс использовали содержание восстановленного глутатиона, которое статистически значимо увеличивается при действии ЭМИ (табл. 2). Значимо увеличивается также содержание белка острой фазы воспаления, антиоксиданта церулоплазмينا (ЦП) в плазме крови крыс, находившихся под действием ЭМИ, (табл. 2). Значимых изменений ЦП и глутатиона через 30 и 60 сут не выявлено. Только через 90 сут значимо увеличивается содержание ЦП в плазме крови и глутатиона в эритроцитах (табл. 2).

При определении содержания минеральных веществ было установлено, что содержание меди (Cu²⁺) в плазме крови крыс, которые в течение длительного времени находились под действием ЭМИ, увеличивалось на 24% по сравнению с группой интактных животных (табл. 3). Содержание железа (Fe²⁺) в плазме крови крыс через 90 сут влияния ЭМИ статистически значимо снижалось на 42% (табл. 3).

Обсуждение

Ведущая роль в формировании ответной реакции организма на воздействие повреждающих факторов окружающей среды, к числу которых относится ЭМИ, принадлежит крови, как одной из наиболее реактивных систем. Хемилюминесцентный (ХЛ) анализ – это универсальный, перспективный и высокочувствительный метод оценки состояния свободнорадикальных процессов в организме. Увеличение показателей ХЛ анализа: I_{max}, S, S_{imax} наблюдается в экспериментальных исследованиях при герпетическом кератите у кроликов [18], при отравлении фосфорорганическими соедине-

Таблица 1/Table 1

Хемилюминесцентный анализ эритроцитов и плазмы периферической крови крыс через 90 сут в условиях действия электромагнитном облучении дециметрового диапазона, (M±m)

Chemiluminescent analysis of peripheral blood erythrocytes and plasmas in rats after 90 days of exposure to the decimeter-range electromagnetic radiation, (M±m)

Группы животных	Эритроциты				Плазма			
	I _{max} (мВ)	S (мВ×сек)	S _{imax} (мВ×сек)	tg2	I _{max} (мВ)	S (мВ×сек)	S (мВ×сек)	tg2
Интактная группа	64,4±12,8	218,8±46,7	191,4±40,6	-29,7±6,5	452,1±25,8	4582,2±176,0	4181,6±157,6	-93,4±9,8
Опытная группа	31,4±4,3*	77,1±8,2*	74,2±5,7*	-13,5±1,3*	413,9±27,5	4342,2±149,5	3970,3±132,3	-88,4±10,8

Примечание. * – статистически значимые различия (p<0,05) в сравнении с группой интактных животных.

Note. * – p<0.05, significant differences from control rats.

Таблица 2/Table 2

Содержание восстановленного глутатиона (мкмоль/г Hb) в эритроцитах и церулоплазмينا (мг/л) в плазме крови крыс при электромагнитном излучении дециметрового диапазона, (M±m)

Content of reduced glutathione in erythrocytes (μmol/g Hb) and ceruloplasmin (mg/l) in plasma of rats exposed to the decimeter-range electromagnetic radiation

Группы животных	Глутатион	Церулоплазмин
Интактная группа	2,28±0,10	255,95±12,18
Влияние ЭМИ дециметрового диапазона:		
Опытная группа (30 сут)	2,35±0,16	257,64±15,64
Опытная группа (60 сут)	2,49±0,20	270,26±17,07
Опытная группа (90 сут)	2,83±0,07*	295,17±14,48*

Примечание. * – статистически значимые различия (p<0,05) в сравнении с группой интактных животных.

Note. * – p<0.05, significant differences from control rats.

ниями крыс [13], при аллоксановом сахарном диабете [19], черепно-мозговой травме у крыс [20]. Известно, что в эксперименте у крыс показатели хемилюминесценции могут изменяться разнонаправленно: уменьшаются при остром отравлении этанолом [21], гипоксии, онкологических процессах. Снижение показателей интенсивности ХЛ анализа крови связано с нарушением проницаемости мембран клеток и последующим выходом в кровь низкомолекулярных пептидов. Известно, что снижают интенсивность ХЛ содержащиеся в крови антиоксиданты: ЦП, глутатион, ионы переменной валентности (медь, железо) [22]. Изменение проницаемости плазматической мембраны эритроцитов адекватно отражает процессы окислительного стресса, может рассматриваться, как показатель общей клеточной проницаемости. Ранее нами было показано, что длительное пребывание животных в условиях действия ЭМП дециметрового диапазона приводит к повышению проницаемости эритроцитарных мембран [23].

Система глутатиона является естественной цитопротекторной системой при острых интоксикациях [24]. В зависимости от длительности и степени тяжести заболевания изменения в системе глутатиона имеют разнонаправленный характер. Ранние стадии патологического процесса сопровождаются адаптивными компенсаторными изменениями глутатионовой системы. В последующем течение заболевания характеризуется дезадаптацией и дисбалансом глутатионпероксидазной активности, что способствует прогрессированию заболевания [25]. Показано, что уровень восстановленного глутатиона в эритроцитах может компенсаторно повышаться при обострении хронического панкреатита [25].

Показатели антиоксидантной защиты оказались чувствительными к действию ЭМИ. Влияние ЭМИ в течение 90 сут оказалось более существенным и привело к увеличению глутатиона и ЦП в крови, что способствовало снижению процессов СРО в эритроцитах. Повышение уровня восстановленного глутатиона в эритроцитах и ЦП в плазме крови крыс при длительном влиянии

ЭМИ дециметрового диапазона в предельно допустимой энергетической экспозиции $200(\text{мкВт}/\text{см}^2) \cdot \text{ч}$ может рассматриваться в качестве адапционного ответного механизма активации антиоксидантной защиты на повреждающее действие ЭМИ.

Состояние печени оказывает влияние на содержание неферментативных антиоксидантов и активность антиоксидантных ферментов [26]. ЭМИ повреждает биологические мембраны, в том числе мембраны эритроцитов и гепатоцитов. Белок острой фазы воспаления ЦП синтезируется в печени, транспортирует медь и обладает ферроксидазной активностью по отношению к ионам двухвалентного железа. Длительное, в течение 90 сут, влияние ЭМП, создаваемое мобильными телефонами, приводит к снижению уровня железа в плазме крови, что может быть обусловлено нарушением транспортных механизмов железа в организме. ЭМИ влияет на экспрессию белков: гепсидина, ферритина, интерлейкина 6 и общего количества лейкоцитов с последующим ухудшением параметров Fe^{2+} [27]. Гепсидин является главным гуморальным регулятором системного гомеостаза железа, который напрямую коррелирует с выраженностью воспалительных процессов в организме. Повышение синтеза гепсидина при воспалительных процессах способствует ингибированию белковых переносчиков железа, что приводит к снижению абсорбции Fe^{2+} в кишечнике и блокировке выхода Fe^{2+} из макрофагов, с последующим накоплением его в органах и тканях. Избыточное содержание железа (Fe^{2+}) в органах и тканях сопряжено с цитотоксическим эффектом, который обусловлен способностью двухвалентного железа запускать цепные свободно-радикальные реакции, с последующим повреждением белковых структур. Накопление железа в паренхиматозных органах приводит к дегенеративным изменениям и прогрессирующему развитию фиброза, необратимым нарушениям функций печени, поджелудочной железы и сердца [28]. В периферической крови при этом наблюдается снижение уровня же-

Таблица 3/Table 3

Содержание меди и железа в мкмоль/л в плазме крови крыс при электромагнитном облучении дециметрового диапазона ($M \pm m$)
Contents of copper and iron ($\mu\text{mol/l}$) in blood plasma of rats exposed to the decimeter-range electromagnetic radiation, ($M \pm m$)

Группы животных	Медь	Железо
Интактная группа	55,8 \pm 2,14	43,4 \pm 0,90
Опытная группа	73,5 \pm 3,57*	25,2 \pm 0,88*

Примечание. * – статистически значимые различия ($p < 0,05$) в сравнении с группой интактных животных.

Note. * – $p < 0.05$, significant differences from control rats.

леза, с последующим развитием анемии. Снижение содержания железа Fe^{2+} в плазме крови при длительном действии ЭМИ дециметрового диапазона связано и с увеличением ферроксидазной активности ЦП. Несмотря на компенсаторное повышение ЦП, уровень меди в плазме крови существенно повышается, что является неблагоприятным фактором. Определение содержания меди в плазме крови имеет значение для оценки степени поражения печени при заболеваниях гепатобилиарного тракта [29].

Заключение

Длительное воздействие электромагнитного излучения дециметрового диапазона от мобильных устройств приводит к нарушению равновесия в системе прооксиданты – антиоксиданты в эритроцитах периферической крови. Антиоксиданты глутатион и церулоплазмин являются мишенью для действия электромагнитного излучения дециметрового диапазона. Установлено влияние электромагнитного излучения на показатели минерального обмена: снижение содержания железа (Fe^{2+}) и увеличение содержания меди (Cu^{2+}) в плазме крови. Снижение уровня железа в плазме крови при электромагнитном излучении свидетельствует о развитии анемии. Повышение содержания меди (Cu^{2+}) в плазме крови при электромагнитном излучении имеет значение для определения степени повреждения гепатоцитов.

Литература

(п.п. 5; 8-11; 16; 27; 28 см. References)

1. Соловьёв В.С., Жевновская А.Н., Гашев С.Н., Соловьёва С.В. Влияние электромагнитного излучения промышленной частоты на гематологические показатели периферической крови грызунов. *Принципы экологии*. 2016; 18(2): 84-90.
2. Григорьев О.А., Степанов В.С. Антропогенное электромагнитное загрязнение окружающей среды как новый глобальный экологический фактор эволюционного значения. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2008; 23(3): 22-3.
3. Григорьев Ю.Г., Григорьев О.А. *Сотовая связь и здоровье: Электромагнитная обстановка. Радиобиологические и гигиенические проблемы. Прогноз опасности*. М.: Экономика; 2013.
4. Лиманский Ю.П., Самосюк И.З., Самосюк Н.И., Чухраев Н.В. Концепция электромагнитного гомеостаза и теоретическое обоснование применения низкоинтенсивных электромагнитных полей в клинической практике. *Вестник физиотерапии и курортологии*. 2013; 19(3): 18-22.
6. Жаворонков Л.П., Петин В.Г. Влияние электромагнитных излучений сотовых телефонов на здоровье. *Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра)*. 2016; 25(2): 43-56.
7. Румянцев Г.И., Прохоров Н.И., Несвижский Ю.В., Виноградов М.А. Анализ патогенетической значимости излучений мобильных телефонов. *Вестник РАМН*. 2004; 6: 31-5.

12. Полякова А.Г., Соловьева А.Г., Сазонова И.Е., Захарова Д.В. Влияние электромагнитного излучения крайне высоких частот на про- и антиоксидантный статус крови в эксперименте. *Биофизика*. 2016; 61(1): 131-7.
13. Терехина Н.А., Зорин М.Г., Терехин Г.А. Влияние сапропелевых грязей на показатели окислительного стресса и антиоксидантной защиты при остром отравлении карбофосом. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2007; 1: 6-8.
14. Савлуков А.И., Самсонов В.М., Камилов Р.Ф. и др. Состояние устойчивости эритроцитов как звено адаптации организма. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2011; 6(4): 13-7.
15. Кузьмина Е.И., Нелюбин А.С., Щенникова М.К. Применение индуцированной хемилюминесценции для оценки свободно-радикальных реакций в биологических субстратах. *Биохимия и биофизика микроорганизмов: межвузовский сборник*. Горький. 1983: 179-83.
17. Камышников В.С. *Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник*. М.: МЕД. пресс-информ; 2009.
18. Петрович Ю.А., Терехина Н.А., Шмагель К.В. Влияние селенита натрия на активность глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы в тканях глаза при герпетическом кератите. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1987; 4: 405-7.
19. Терехина Н.А., Ненашева О.Ю. Хемилюминесцентный анализ биологических жидкостей больных сахарным диабетом. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2004; 11: 38-9.
20. Колесникова А.А., Флейшман М.Ю., Якушева Н.Ю., Слободенюк Е.В., Толстенок И.В. Уровень окислительного стресса в ткани мозга крыс после черепно-мозговой травмы при введении синтетических регуляторных пептидов. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020; 3: 65-7.
21. Терехина Н.А., Жидко Е.В., Терехин Г.А., Орбиданс А.Г. Влияние сорбентов на показатели антиоксидантной защиты и свободнорадикального окисления при острой алкогольной интоксикации. *Сибирское медицинское обозрение*. 2017; 6: 53-9.
22. Винник Ю.С., Савченко А.А., Перьянова О.В., Теплякова О.В., Якимов С.В., Тепляков Е.Ю. и др. Клинические аспекты применения хемилюминесцентного анализа. *Сибирское медицинское обозрение*. 2006; 40(3): 3-6.
23. Селин А.Д., Терехина Н.А., Терехин Г.А. Влияние электромагнитного излучения на проницаемость эритроцитарных мембран. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2020; 10(4): 43-9.
24. Глушков С.И., Куценко С.А. Система глутатиона как естественная цитопротекторная система в условиях острых интоксикаций. *Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты*. 2004; 67-8.
25. Меринова Н.И., Козлова Н.М., Колесниченко Л.С., Сулова А.И., Ясько М.В., Егорова И.Э. и др. Малоновый диальдегид и система глутатиона в крови у больных хроническим панкреатитом в зависимости от длительности заболевания. *Сибирский медицинский журнал*. 2013; 4: 67-9.
26. Терехина Н.А., Заривчацкий М.Ф., Владимиров А.А., Хлебников В.В. Показатели антиоксидантной защиты при остром и хроническом холецистите. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2008; 4: 41-3.
29. Терехина Н.А., Терехин Г.А., Жидко Е.В., Орбиданс А.Г. Прогностическое значение определения содержания меди при заболеваниях гепатобилиарного тракта. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 9: 63.

References

- Solovoyov V.S., Zhevnovskaya A.N., Gashev S.N., Solovyova S.V. Influence of electromagnetic radiation of industrial frequency on hematological parameters of the peripheral blood of rodents. *Prinsipy ekologii*. 2016; 18(2): 84–90. (in Russian)
- Grigoriev O.A., Stepanov V.S. Anthropogenic electromagnetic pollution as a new global environmental factor of evolutionary importance. *Vestnik Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii*. 2008; 23(3): 22–3. (in Russian)
- Grigoriev Y.G., Grigoriev O.A. *Cellular communication and health. Electromagnetic conditions. Radiobiological and hygienic problems. The forecast of danger. [Sotovaya svyaz' i zdorov'e: Elektromagnitnaya obstanovka. Radiobiologicheskie i gigienicheskie problemy. Prognoz opasnosti]*. Moscow: Economy; 2013. (in Russian)
- Limanskij Yu.P., Samosyuk I.Z., Samosyuk N.I., Chuxraev N.V. The concept of electromagnetic homeostasis and theoretical justification for the use of low-intensity electromagnetic fields in clinical practice. *Vestnik fizioterapii i kurortologii*. 2013; 19(3): 18–22. (in Russian)
- Gherardini L., Ciuti G., Tognarelli S., Cinti C. Searching for the perfect wave: the effect of radiofrequency electromagnetic fields on cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15: 5366–87.
- Zhavoronkov L.P., Petin V.G. The impact of electromagnetic radiation from cell phones on health. *Radiatsiya i risk (Byulleten Natsionalnogo radiatsionno-epidemiologicheskogo registra)*. 2016; 25(2): 43–56. (in Russian)
- Rumyancev G.I., Proxorov N.I., Nesvizhskij Yu.V., Vinogradov M.A. Analysis of the pathogenetic significance of mobile phone radiation. *Vestnik RAMN*. 2004; 6: 31–35. (in Russian)
- Calcabrini C., Mancini U., De Bellis R., Diaz A.R., Martinelli M., Cucchiari L., et al. Effect of extremely low-frequency electromagnetic fields on antioxidant activity in the human keratinocyte cell line NCTC 2544. *Biotechnology and applied biochemistry*. 2017; 64(3): 415–22.
- Georgiou C.D. Oxidative stress induced biological damage by low level EMFs: mechanism of free radical pair electron spin polarization and biochemical amplification. *Eur. J. Oncol.* 2010; 5: 66–113.
- Yakymenko I., Tsybulin O., Sidorik E., et al. Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation. *Electromagnetic Biology and Medicine*. 2016; 35(2): 186–202.
- Hisidoglu E., Kantar Gok D., Er H., et al. 2100-MHz electromagnetic fields have different effects on visual evoked potentials and oxidant/antioxidant status depending on exposure duration. *Brain research*. 2016; 1635: 1–11.
- Polyakova A.G., Soloveva A.G., Sazonova I.E., et al. The influence of electromagnetic radiation of extremely high frequencies on the pro- and antioxidant status of blood in experiments. *Biophysics*. 2016; 61(1): 109–14.
- Terekhina N.A., Zorin M.G., Terekhin G.A. Effect of spropeline mud on indicators of oxidative stress and antioxidant protection in acute carbophos poisoning. *Patologicheskaya Fiziologia i Eksperimental'naya terapiya*. 2007; (1): 6–8. (in Russian)
- Savlukov A.I., Samsonov V.M., Kamilov R.F. The state of red blood cell resistance as a link of adaptation of the body. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*. 2011; 6(4): 13–7. (in Russian)
- Kuzmina E.I., Nelyubin A.S., Shchennikova M. K. Application of induced chemiluminescence to assess free-radical reactions in biological substrates. *Biokhimiya i biofizika mikroorganizmov: mezhdunarodskiy sbornik. Gor'kiy*. 1983: 179–83. (in Russian)
- Beutler E. *Red Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods*. 3rd ed. New York: Grune & Stratton; 1990: 131–4.
- Kamyshnikov V.S. *Clinical and biochemical laboratory diagnostics: Guide. [Kliniko-biokhimicheskaya laboratornaya diagnostika: Spravochnik]*. Moscow: MED. press-inform; 2009. (in Russian)
- Petrovich Y.A., Terekhina N.A., Shmagel K.V. The effect of sodium selenite on the activity of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in the tissues of the eye in herpetic keratitis. *Byulleten eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 1987; 4: 405–7. (in Russian)
- Terekhina N.A., Nenasheva O.Y. Chemiluminescent analysis of biological fluids in patients with diabetes mellitus. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2004; 11: 38–9. (in Russian)
- Kolesnikova A.A., Flejshman M.Yu., Yakusheva N.Yu., Slobodenyuk E.V., Tolstenok I.V. The level of oxidative stress in rat brain tissue after traumatic brain injury upon administration of synthetic regulatory peptides. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2020; 3: 65–7. (in Russian)
- Terekhina N.A., Zhidko E.V., Terekhin G.A., Orbidans A.G. Influence of sorbents on indicators of antioxidant protection and free radical oxidation in acute alcohol intoxication. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie*. 2017; 6: 53–9. (in Russian)
- Vinnik Yu.S., Savchenko A.A., Perianova O.V., Teplyakova O.V., Yakimov S.V., Teplyakov E.Yu., et al. Clinical aspects of the use of chemiluminescence analysis. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie*. 2006; 40(3): 3–6. (in Russian)
- Selin A.D., Terekhina N.A., Terekhin G.A. Influence of electromagnetic radiation on the permeability of erythrocyte membranes. *Krymskiy zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny*. 2020; 10(4): 43–9. (in Russian)
- Glushkov S.I., Kutsenko S.A. The glutathione system as a natural cytoprotective system under conditions of acute intoxication. *Mediko-biologicheskie problemy protivoluchevoy i protivokhimicheskoy zashchity*. 2004; 67–8. (in Russian)
- Merino N.I., Kozlova N.M., Kolesnichenko L.S., Suslova A.I., Yasko M.V., Egorova I.E., et al. Malondialdehyde and the system of glutathione in the blood in patients with chronic pancreatitis, depending on the duration of the disease. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2013; 4: 67–9. (in Russian)
- Terekhina N.A., Zarivchatsky M.F., Vladimirov A.A., Khlebnikov V.V. Antioxidant protection in acute and chronic cholecystitis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2008; (4): 41–3. (in Russian)
- El-Maleky N.F., Ebrahim R.H. Effects of exposure to electromagnetic field from mobile phone on serum hepcidin and iron status in male albino rats. *Electromagnetic Biology and Medicine*. 2019; 38(1): 66–73.
- Porter J.B. Monitoring and treatment of iron overload: state of the art and new approaches. *Sem. Hematol.* 2005; 42(2): 14–8.
- Terekhina N.A., Terekhin G.A., Zhidko E.V., Orbidans A.G. Predictive value of determining the copper content in diseases of the hepatobiliary tract. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2015; 9: 63. (in Russian)

Сведения об авторах:

Терехина Наталья Александровна, доктор мед. наук, проф., зав. каф. биохимии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России, e-mail: terekhina@list.ru;

Селин Алексей Дмитриевич, ст. преподаватель каф. биохимии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России, e-mail: adselin13@gmail.com;

Терехин Георгий Анатольевич, доктор мед. наук, проф., зав. каф. экстремальной медицины и товароведения ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, e-mail: terehin-ga@yandex.ru

Обзоры

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-092

Меркулов Ю.А.¹, Гореликов А.Е.², Пятков А.А.², Меркулова Д.М.³

Ритмическая транскраниальная магнитная стимуляция в терапии хронической боли в нижней части спины. Систематический обзор (часть I)

¹ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии»,

125315, Москва, Россия, Балтийская ул., д. 8;

²ГАУЗ «МНПЦ медицинской реабилитации, восстановительной и спортивной медицины»,

105120, Москва, Россия, ул. Земляной вал, д. 53;

³ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) Минздрава России,

119048, Москва, Россия, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2

Цель обзора – анализ результатов исследований эффективности ритмической транскраниальной и трансспинальной магнитной стимуляции (рТМС и рТсМС) в лечении боли в пояснице. Хроническая боль в нижней части спины (ХБНЧС) составляет 22% от всех случаев хронической боли и 35% от рефрактерных болевых синдромов, и осложняется изменчивостью проявлений и механизмов, лежащих в ее основе. Невысокие успехи традиционного лечения и реабилитации пациентов с ХБНЧС не учитывают каскад нейрофизиологических изменений (нейропластичность), включающий в себя сложное взаимодействие между повреждением тканей, изменением афферентной информации, передаваемой от периферических рецепторов к спинному мозгу, стволу и областям коры головного мозга, изменениями в нейронной обработке болевых раздражителей и психосоциальных факторов. Это находит отражение в повышенном интересе профессионального сообщества регенеративной медицины к применению высокотехнологических методов нейромодуляции ритмическими электромагнитными импульсами при ХБНЧС. В настоящей первой части обзора представлен систематический анализ накопленных к моменту его публикации литературных данных, которые подтверждают, что ритмическая транскраниальная магнитная стимуляция (рТМС) является патогенетическим терапевтическим методом для таких пациентов, основываясь на экспериментальных и клинических эффектах положительного влияния на искаженную сенсорную передачу, изменение проприоцепции, управление движением и психологическую модуляцию. Методика зарекомендовала себя в кратковременном облегчении хронической дорсалгии, в то время как долгосрочные последствия рТМС (>3 месяцев) должны быть исследованы далее. Для уточнения ее эффективности у пациентов с ХБНЧС требуется последующий набор продуманных РКИ как по дизайну, так и специфике «ослепления» участников. Кроме того, различные факторы, связанные с унификацией пока еще разнородных протоколов стимуляции, включая форму подачи импульсов, частоту, место приложения, регулярность и продолжительность лечения, могут улучшить дальнейшую надлежащую трактовку ее результатов.

Ключевые слова: хроническая боль в нижней части спины; ритмическая транскраниальная магнитная стимуляция; нейропластичность; систематический обзор

Для цитирования: Меркулов Ю.А., Гореликов А.Е., Пятков А.А., Меркулова Д.М. Ритмическая транскраниальная магнитная стимуляция в терапии хронической боли в нижней части спины. Систематический обзор (часть I). *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2021; 65(3): 80-90.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.80-90

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Меркулов Ю.А.; сбор материала – Меркулов Ю.А., Гореликов А.Е., Пятков А.А.; анализ и интерпретация данных – Меркулов Ю.А., Меркулова Д.М.; статистическая обработка данных, подготовка иллюстративного материала, написание текста – Меркулов Ю.А., редактирование текста – Меркулова Д.М. Обсуждение окончательной версии статьи – все авторы.

Для корреспонденции: Меркулов Юрий Александрович, e-mail: 4181220@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 28.05.2021

Принята к печати 30.06.2021

Опубликована 30.09.2021

Merkulov Y.A.¹, Gorelikov A.E.², Pyatkov A.A.², Merkulova D.M.³

Repetitive transcranial magnetic stimulation in the treatment of chronic low back pain. A systematic review (Part I)

¹Scientific Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8 Baltiyskaya Str., Moscow, 125315, Russian Federation;

²Moscow Centre for Medical Rehabilitation, Restorative and Sports Medicine, 53 Zemlyanoj val Str., Moscow, 105120, Russian Federation;

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 8 Bld. 2, Trubeckaya Str., Moscow, 119048, Russian Federation

The aim of this review was to analyze results of studies on the effectiveness of repetitive transcranial and trans-spinal magnetic stimulation (rTMS and rTsMS) in the treatment of low back pain. Chronic low back pain (CLBP) accounts for 22% of all chronic pain cases and 35% of refractory pain syndromes and is complicated by the variability of its manifestations and mechanisms. The low success rate of traditional treatment and rehabilitation of patients with chronic pain does not take into account the cascade of neurophysiological changes (neuroplasticity), including complex interaction between tissue damage, changes in afferent information transmitted from peripheral receptors to spinal cord, brainstem and cortical regions, changes in neural processing of pain stimuli and psychosocial factors. This is reflected in the increased interest of the professional community of regenerative medicine in implementing high-tech methods of neuromodulation by repetitive electromagnetic pulses in CLBP. This first part of the review presents a systematic analysis of the literature data accumulated by the time of its publication, confirming that repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) is a viable pathogenetic therapeutic method for such patients, based on experimental and clinical positive effects on impaired sensory transmission, changes in proprioception, motor control, and psychological modulation. The method has proven successful in providing short-term relief for chronic dorsalgia, while the long-term effects of rTMS (>3 months) require further investigation. In order to clarify its efficacy in patients with CLBP, a follow-up set of elaborate RCTs is required, both in terms of design and specific «blinding» of participants. In addition, various factors associated with the unification of the still heterogeneous stimulation protocols, including pulse delivery form, frequency, application location, periodicity and treatment duration, may further improve proper result interpretation.

Keywords: chronic lower back pain; repetitive transcranial magnetic stimulation; neuroplasticity; systematic review

For citation: Merkulov Y.A., Gorelikov A.E., Pyatkov A.A., Merkulova D.M. Repetitive transcranial magnetic stimulation in the treatment of chronic low back pain. A systematic review (Part I). *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal). 2021; 65(3): 80-90. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.80-90

Contribution: research concept and design - Merkulov Y.A.; material collecting – Merkulov Y.A., Gorelikov A.E., Pyatkov A.A.; illustrative material, statistical data processing, data analysis and interpretation, text writing – Merkulov Y.A.; text editing – Merkulova D.M.; Approval of the final version of the article – all co-authors.

For correspondence: Yuri A. Merkulov, Doctor of Medical Sciences, Principal researcher, Scientific Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; 8 Baltiyskaya Str., Moscow, 125315, Russian Federation, e-mail: 4181220@gmail.com

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

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

Information about the authors:

Merkulov Y.A., <https://orcid.org/0000-0001-7684-9834>

Received: 28.05.2021

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

Введение

Боль в спине остается одной из наиболее многогранных и актуальных проблем в диагностике, лечении и реабилитации заболеваний опорно-двигательного аппарата (ОДА). Масштаб проблемы определяется ярким негативным воздействием на человека и общество, многообразием проявлений и форм боли, пробелами в понимании патогенетических механизмов ее формирования, резистентностью к методам воздействия и инвалидирующими последствиями. По данным Аме-

риканской академии медицины боли (The American Academy of Pain Medicine) около трети взрослых людей страдают от распространенных хронических болевых синдромов, что больше, чем число страдающих от болезней сердца, диабета и рака вместе взятых [1]. Экономические издержки, связанные с хроническими болями, включая расходы на здравоохранение и снижение производительности труда, составляют 560-630 млрд долл. в год, а семь из десяти опрошенных счита-

ют, что исследования и лечение боли должны быть одним из немногих либо главным приоритетом медицинского сообщества [2].

Одной из изученных форм боли является ноцицептивная боль, которая представляет собой закономерную реакцию на повреждение тканей, таких как мышцы, внутренние органы, суставы или кости. Другая форма — это нейропатическая боль (НБ), которая включает в себя дисфункцию периферической нервной системы (ПНС) или центральной нервной системы (ЦНС). В последнем случае происходит усиление и генерация боли в самой ЦНС из-за искаженной сенсорной обработки, нарушения работы механизмов ингибирования боли и усиления провоцирующих боль механизмов [3-6]. Примером является психогенная боль, которая обычно не имеет физического происхождения [7, 8]. Некоторые авторы выделяют «центральную сенситизацию» как самостоятельный компонент хронической боли. Они предлагают использовать данный термин в клинической практике для описания подгруппы людей с особыми характеристиками боли, соответствующими 3 критериям: 1) непропорционально сильная боль, 2) нейроанатомически нелогическая картина боли и 3) гиперчувствительность, выходящая за рамки системы-мишени (применительно к боли в спине — опорно-двигательной) [9, 10]. Кроме того, высоко распространенными самостоятельными симптомами любой хронической боли являются депрессия и тревога, о которых сообщают более 50% пациентов с хронической болью [11, 12]. Боль и депрессия могут создать патологический порочный круг, в котором боль усиливает депрессию и наоборот [13].

Согласно Методическим рекомендациям Российского общества по изучению боли (РОИБ) по диагностике и лечению НБ, применяют многочисленные методы нефармакологического лечения, среди которых методы рефлексотерапии обеспечивают развитие анальгезии посредством активации эндогенной антиноцицептивной системы с доказанной ключевой ролью опиоид-, серотонин- и норадренергической систем в реализации рефлекторной анальгезии [14]. Наиболее распространённым рефлексотерапевтическим воздействием на боль является ЧЭНС — метод модуляции поступающей в спинной мозг импульсации путем возбуждения периферических нервов и мышц короткими импульсами слабого тока различной частоты через электроды, размещенные на коже над зонами проекции боли [15-17]. Теоретическое обоснование заключается в том, что локальная электрическая нейромодуляция может изменить как причину, так и восприятие хронической боли. Ряд систематических обзоров по-

священ влиянию ЧЭНС на различные болевые синдромы, такие как боли при ревматоидном артрите, фантомные боли в конечностях и ХБНЧС [18, 19]. Однако эти обзоры показывают, что большинство контролируемых рандомизированных клинических исследований (РКИ) не смогли подтвердить значительных эффектов существующих систем ЧЭНС с локализованным распределением электрического поля. Кроме того, применение данного метода связано с определенными ограничениями, обусловленными непосредственным контактом токопроводящих электродов прибора с кожными покровами пациента, что может вызывать значительные болезненные ощущения [20].

В современных экспериментальных и клинических условиях нейромодуляционные стимулы также могут предъявляться в виде импульсов переменного магнитного поля. Магнитное поле не обладает тепловым эффектом, легче переносится больными и имеет меньше противопоказаний, чем электрическое воздействие. Нейромодуляция определяется как лечение (лекарство или процедура), которое потенцирует или тормозит передачу нервных сигналов, не являясь при этом средством такой передачи. В соответствии с этим широким определением, многие медицинские и немедицинские вмешательства могут быть классифицированы как нейромодуляторные [21]. Один из часто используемых подходов отталкивается от названия нервной структуры, которая является мишенью, например, периферические нервы, спинной мозг или кора головного мозга, а затем классифицирует методы на инвазивные и неинвазивные. Таким образом, неинвазивная стимуляция коры головного мозга подразумевает транскраниальную стимуляцию корковых структур, которая может быть достигнута с помощью различных методов.

По авторитетному мнению РОИБ, среди физических методов транскраниальная магнитная стимуляция (ТМС) обладает наиболее доказанным эффективным воздействием на НБ [22]. Это новый неинвазивный метод, который позволяет стимулировать конкретные участки коры (первичную моторную — М1 или дорсолатеральную префронтальную кору — ДЛПФК) электрическим током, индуцированным магнитной катушкой (индуктором), помещенной на кожу головы: разряд конденсатора высокого напряжения и большой силы тока создает электромагнитное поле в индукторе из медного провода, которое вызывает наведенный электрический ток в нескольких сантиметрах от катушки внутри паренхимы головного мозга. Глубина проникновения генерируемых импульсов пропорциональна диаметру используемого индуктора и мощ-

ности стимулятора. Применение ТМС не только ведет к локальному возбуждению нейронов коры в зоне стимуляции, но и сопровождается диффузными и долговременными реакциями мозга, проявляющимися изменением биоэлектрической активности, мозгового кровотока, когнитивных процессов и др. Индуцированное электрическое поле прежде всего влияет на транспорт ионов через мембраны клеток и, действует на уровне вольтажзависимых ионных каналов. В результате изменяются метаболизм и биоэлектрическая активность клеток мозга [23]. Сфокусированный ток может деполяризовывать нейроны и создавать вызванные реакции (напр.: мышечные подергивания, фосфены) или изменять пластичность, даже если подается с интенсивностью ниже порога деполяризации нейронов. А.Т. Ваггер и соавт. впервые описал ТМС в 1985 г. в качестве метода неинвазивного получения моторных вызванных потенциалов (МВП) скелетных мышц [24].

В начале 90-х годов XX века технический прогресс в области информационных наук позволил выполнять ТМС повторяющимися ритмическими импульсами. Первые исследования ритмической ТМС (рТМС) показали, что стимуляция мозговой коры была в состоянии вызывать локальные эффекты, сохраняющиеся после окончания воздействия [25, 26]. Эти эксперименты были подтверждены клиническими испытаниями по использованию рТМС на ДЛПФК для лечения депрессии [27, 28]. В настоящее время метод рТМС одобрен для этих показаний в нескольких странах, в том числе в России.

Влияние ТМС было изучено при лечении других нервно-психических состояний, таких как хроническая боль, шум в ушах, обсессивно-компульсивные и двигательные расстройства [21]. Идея использования ТМС для лечения хронической боли, основана на эффективности имплантируемых устройств для электрической стимуляции моторной коры при лечении резистентных нейропатических болевых синдромов, о чем было впервые сообщено Т. Tsubokawa и соавт. в 1991 г. [29]. Соответственно, первые исследования с использованием рТМС у пациентов с НБ подтвердили значимость этой методики в прогнозировании эффекта от имплантированных хирургических систем стимуляции прецентральной извилины [30, 31]. В этих фундаментальных исследованиях было показано, что даже единичный сеанс ТМС может уменьшить интенсивность НБ в течение нескольких дней после стимуляции, позволив обосновать, что ТМС может быть инструментом не только для прогнозирования долгосрочных последствий операции, но и для облегчения хронической боли как таковой [32]. На сегодняшний

день в литературе имеются подтверждения обезболивающего эффекта высокочастотной рТМС, что послужило основанием ее включения в Европейские гайдлайны по терапии хронических болевых синдромов различного генеза [33].

Из вышеизложенного следует, что академический и практический интерес к проблемам боли, в том числе боли в спине и ее нейропатическому варианту в частности, равно как и ее немедикаментозной терапии посредством высокотехнологичных методов нейромодуляции ритмическими электромагнитными импульсами, поддерживается в профессиональном сообществе регенеративной медицины на высоком уровне. Это закономерно выражается в регулярной публикации обобщающих обзорных материалов по данным вопросам в медицинской печати. Один из недавних на момент набора этого текста отечественных критических анализов, посвященных магнитной стимуляции в лечении и реабилитации больных с заболеваниями нервной системы и позвоночника был опубликован в 2018 г. А.Е. Гореликовым и соавт. [20]. Обзор более специфической направленности по использованию ТМС в диагностике и терапии болевых синдромов у детей и взрослых – в 2019 г. В.Б. Войтенковым и соавт. [34]. О накопленных к 2016 г. данных по применению периферической или (применительно к мишени стимуляции) трансспинальной магнитной стимуляции (рТсМС) можно узнать из фундаментальной работы В.Н. Блохиной и соавт. [35]. Вместе с тем, насколько представлялось известным, отсутствовали работы, систематизирующие применение рТМС, рТсМС либо их комбинации у пациентов с ХБНЧС. Несмотря на то, что в зарубежной литературе в 2020 г. вышел систематический обзор S. Yang и M. Chang по оценке эффективности рТМС в управлении болью [36], ситуация с более специфической направленностью литературных данных в целом выглядела идентично.

В этой связи целью настоящего обзора явилось проведение и представление анализа результатов исследований из доступных источников, направленных на изучение эффективности рТМС и рТсМС в терапии ХБНЧС.

Методика

Нами проведен поиск в базах данных MEDLINE (PubMed.gov) и РИНЦ (elibrary.ru) на наличие статей, опубликованных до июня 2020 г., в которых авторы использовали метод ритмической магнитной стимуляции для лечения и реабилитации пациентов с хроническим болевым синдромом в спине. Ключевые фразы поиска для выявления потенциально релевантных

статей в MEDLINE были: (((rtms) OR (rpms)) OR (repetitive magnetic stimulation)) AND (low back pain); в базе РИНЦ: (((ртмс) OR (рпмс)) OR (ритмическая магнитная стимуляция)) AND (боль в спине). Кроме того, с учетом предварительного знакомства с одноименной статьей Lee P.V. и соавт. [37], был проведен дополнительный поиск в MEDLINE по фразам: ((pemt) OR (pulsed electromagnetic therapy)) AND (low back pain) и РИНЦ: (импульсная магнитотерапия) AND (боль в спине). Основанием для дополнительного расширения поискового запроса послужило описание метода импульсной магнитотерапии в работе P. Lee и соавт. [37], где применялась ВИМТ с магнитной индукцией до 2,1 Тл, а использованный аппарат CR-3000 System (CR Technology Co., Kyungki-do, Korea) конструктивно не отличался от приборов для ритмической магнитной стимуляции, однако без специфической идентификации.

При выборе статей были применены следующие критерии включения: (1) пациенты с ХБНЧС, (2) методы ритмической магнитной стимуляции были применены для лечения и/или реабилитации этих пациентов, и (3) после воздействия ритмической магнитной стимуляцией были проведены контрольные исследования для оценки степени снижения боли. Следующие типы исследований были исключены: (1) обзоры, (2) исследования на животных, (3) диссертации и авторефераты диссертаций, а также (4) тезисы и/или доклады конференций.

Статистическую обработку полученных материалов проводили в программе Jamovi V 1.2.18.0 (jamovi.org) с помощью модуля MAJOR (Meta-Analysis for Jamovi) по исходам, основанным на непрерывных данных – оценке боли по визуально-аналоговой шкале (ВАШ) между основной группой, получавшей тот или иной вид ритмической магнитной стимуляции, и контрольной группой, получавшей имитационную магнитную стимуляцию (ИМС) – с использованием модели случайных эффектов, метода ограниченного максимального правдоподобия, стандартизованной разности средних и 95% доверительного интервала (ДИ). Оценка статистической неоднородности исследований проводилась по показателю I^2 и Q-тесту.

Результаты

По результатам поиска было выявлено 170 потенциально релевантных статей. Из них 64 и 77 публикаций отобраны по исходным ключевым фразам в базах MEDLINE и РИНЦ, соответственно. При помощи дополнительных фраз поиска найдено 25 публикаций в базе данных MEDLINE и 4 – в РИНЦ. Названия

и аннотации всех отобранных работ были проверены на соответствие требованиям. Затем были получены полнотекстовые статьи для оценки приемлемости исследований, и в итоге в настоящий обзор было включено в общей сложности 14 публикаций (**рисунок**). Эти публикации состояли из нерандомизированных, наблюдательных и РКИ с параллельным или перекрестным дизайном. Характеристики исследований, изучавших воздействие рТМС, обобщены в **таблице**.

Обсуждение

Основой патогенеза развития ХБНЧС, как наглядного примера патологической боли по Г.Н. Крыжановскому, является дисбаланс ноци- и антиноцицептивной систем, сопровождаемый формированием в нервной системе скоплений гиперактивных нейронов, являющихся генератором патологически усиленного возбуждения (ГПУВ) [38]. Формирование и деятельность ГПУВ относится к типовым патологическим процессам, а его особенностью является способность развивать самоподдерживающуюся активность. Гиперактивность нейронов и возникновение ГПУВ возможны по синаптическим и несинаптическим механизмам. Длительно существующий ГПУВ, во-первых, закрепляет свою структуру нейропластическими изменениями, а во-вторых, оказывает влияние на другие структуры ноцицептивной системы, вовлекая их в патологическую алгическую систему (ПАС) [39]. Появление ГПУВ при ХБНЧС, с одной стороны, возможно в воспаленных мышечных тканях в виде сенситизированных ноцицепторов, вследствие чего происходит повышение возбудимости ноцицептивных нейронов в структурах ЦНС, приводя к рефлекторной активации мотонейронов в соответствующих сегментах спинного мозга и сокращению мышц. С другой – в самих нейрональных структурах за счет отека, ишемии и асептического воспаления нервных корешков, которые возникают вследствие выделения провоспалительных субстратов (таких, как фосфолипаза А2, лейкотриен В4, тромбосан В2, цитокины, включая фактор некроза опухоли альфа). В этих условиях могут существенно изменяться морфофункциональные свойства нервных волокон, повышаться возбудимость ноцицепторов, расширяться диапазон стимулов, способных их активировать, возникать перекрестное возбуждение в нейронах спинномозговых ганглиев [40].

За счет влияния ПАС при ХБНЧС нарушается моторный контроль движений туловища во время выполнения поструральных и функциональных задач, т.к. управление движениями туловища опирается на сложную интеграцию между центральными нейрональными

контурами и периферическим нейромоторным аппаратом. Боль может нарушать рекрутирование двигательных единиц посредством уменьшения эфферентного притока импульсов к болезненной мышце. Во время боли или страха перед болью производительность ЦНС вообще может снижаться, потому что боль является для ЦНС приоритетом [41]. Предполагается, что

кора М1 играет критическую роль в модулировании постурального мышечного контроля [42], однако механизмы воздействия на нее рТМС при болях до сих пор остаются не полностью проясненными. Существует несколько гипотез. Согласно одной из них, опосредованное воздействие рТМС на область М1 способно вызывать изменения в активности корковых и подкор-

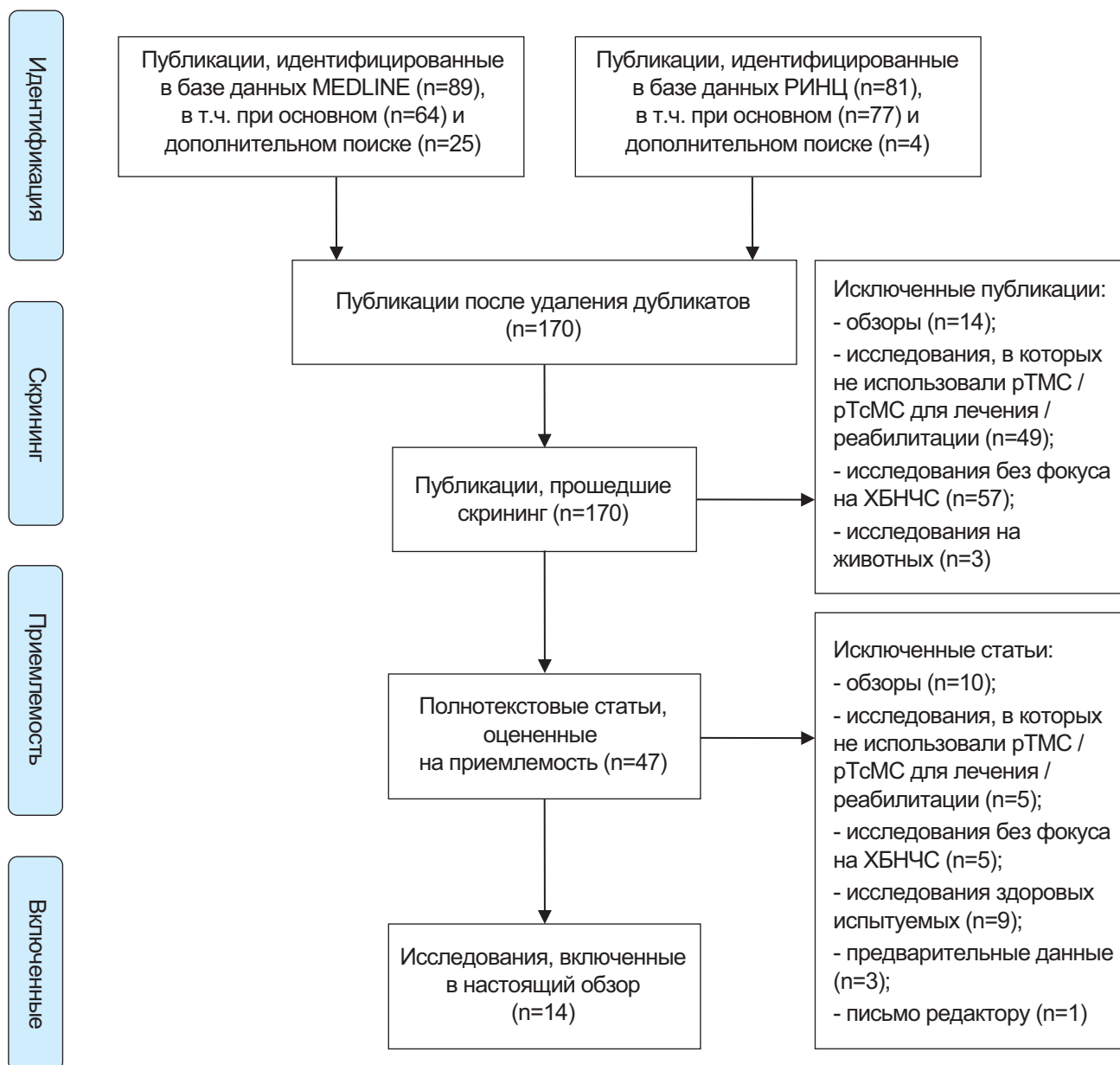


Рис. Диаграмма PRISMA, отражающая результаты поиска для настоящего исследования (адаптировано по: D. Moher и соавт., 2009 [53]).

Fig. PRISMA diagram showing the search results for this study (adapted from: D. Moher et al., 2009 [53]).

ковых структур головного мозга, связанных с модуляцией и обработкой болевых сигналов – медиальных отделов таламуса, передней части поясной извилины, орбитофронтальной коры, околотовопроводного серого вещества [43]. Согласно другой гипотезе, обезболивающее действие рТМС является следствием стимуляции ГАМК-эргических тормозных нейронов моторной коры, которые напрямую ингибируют активность ядер таламуса, блокируя таким образом всю соматосенсорную систему, включая и ноцицепцию [44]. Эту гипотезу

подтверждает тот факт, что эффективность рТМС коррелирует с сохранностью таламокортикального тракта у пациентов с постинсультным болевым синдромом [45]. Кроме того, за счет активации поясной извилины и орбитофронтальной области, приводящей к снижению торможения болевых импульсов при возбуждении верхних отделов ствола мозга, стимуляция М1 может влиять на аффективно-эмоциональную составляющую хронической боли [46]. Также рТМС способна уменьшать хроническую боль путем запуска нисходящих тор-

Таблица/Table

Характеристики включенных исследований, использовавших рТМС для терапевтического воздействия на ХБНЧС
Characteristics of included studies that used rTMS for therapeutic management of CLBP

№ п/п	Источник, год	Дизайн исследования	Количество пациентов	Частота (Гц)	Интенсивность (МП/ВМ, %)	Протокол стимуляции	Тип индуктора	Область стимуляции	Количество сеансов стимуляции	Оценка результатов
1	Johnson S. и соавт. [49], 2006	ПерИ	17/ИМС	20	95/МП	500 импульсов за сеанс: 12,5 пачек из 40 импульсов с 28 сек интервалами между пачками	8-образный	M1/S1	1	ВРІ, порого температурной болевой чувствительности
2	Park E.J. и соавт. [51], 2014	ОС	2	1	100/МП	1200 импульсов за сеанс	8-образный	Левая ДЛПФК	20 и 15	ЧРШ
3	Ambriz-Tututi M. и соавт. [42], 2016	ПерИ	41+12 (ИМС)+26 (ФТ)	20	95/МП	10 пачек импульсов, длительность 10 сек, интервал между пачками 28 сек	8-образный	M1/S1	5	ВАШ, SF-MPQ
4	Yates E., Balu G. [52], 2016	ОС	2	18	НД	Стимуляция 2 сек с паузами 20 сек	НД	НД	26	ВАШ
5	Бородулина И.В. и соавт. [50], 2019	ПарИ	42 (КТ)+41 (МТ)	10	80/МП	3200 импульсов в виде чередования «посылки (4 сек) и паузы (26 сек)»	8-образный	M1	10	ВАШ, DN4, PainDETECT, SF-36, ШДБ

Примечание. рТМС – ритмическая транскраниальная магнитная стимуляция; ИМС – имитационная магнитная стимуляция; ХБНЧС – хроническая боль в нижней части спины; МП – моторный порог; ВМ – выходная мощность; ПерИ – перекрестное исследование; ПарИ – параллельное исследование; ОС – описание случаев; ФТ – физиотерапия; КТ – комплексная терапия; МТ – медикаментозная терапия; ЧЭНС – чрескожная электрическая нейростимуляция; НД – нет данных; M1/S1 – первичная моторная/сенсорная кора; ДЛПФК – дорсолатеральная префронтальная кора; ВРІ – Brief Pain Inventory (краткий перечень боли); ЧРШ – числовая ранговая шкала; ВАШ – визуально-аналоговая шкала; SF-MPQ – Short Form of McGill Pain Questionnaire (короткая форма болевого опросника МакГилла); DN4 – одноименный опросник нейропатической боли, PainDETECT – одноименный опросник нейропатической боли; SF-36 – короткая форма одноименной шкалы оценки физического и психического аспектов качества жизни; ШДБ – шкала депрессии Бека.

Note. рТМС – repetitive transcranial magnetic stimulation; ИМС – sham magnetic stimulation; ХБНЧС – chronic low back pain; МП – motor threshold; ВМ – stimulator output; ПерИ – cross-sectional study; ПарИ – parallel study; ОС – case report; ФТ – physical therapy; КТ – complex therapy; МТ – pharmacotherapy; ЧЭНС – percutaneous electrical neurostimulation; НД – no data; M1/S1 – primary motor/sensory cortex; ДЛПФК – dorsolateral prefrontal cortex; ВРІ – Brief Pain Inventory; ЧРШ – numerical rank scale; ВАШ – visual analogue scale; SF-MPQ – Short Form of McGill Pain Questionnaire; DN4 – Neuropathic Pain Questionnaire, PainDETECT – Neuropathic Pain Questionnaire; SF-36 – Short Form 36 Health Survey Questionnaire; ШДБ – Beck Depression Scale.

мозжных механизмов, реализуемых на уровне задних рогов спинного мозга [47]. И наконец, обезболивающий эффект рТМС может быть обусловлен связанным со стимуляцией антиноцицептивной системы выбросом в кровь и ликвор эндорфинов [23]. Частота стимуляции пропорциональна генерируемым синаптическим изменениям: более высокие частоты (> 5 Гц) являются возбуждающими, а более низкие частоты (<1 Гц) — ингибирующими. Таким образом, высокочастотная стимуляция повышает возбудимость коры, в то время как низкочастотная стимуляция способствует ее уменьшению [48].

В ходе нашего поиска было обнаружено 5 исследований, в том числе 3 РКИ [42, 49,50] и 2 описания клинических случаев [51,52], которые были проведены с использованием рТМС для лечения ХБНЧС.

Первая попытка оценки эффективности высокочастотной рТМС при хронической боли на модели 17 пациентов с БНЧС описана в работе S. Johnson и соавт. В 2006 г. [49]. На примере единственного сеанса стимуляции области М1 частотой 20 Гц авторы показали статистически значимое уменьшение восприятия боли по Brief Pain Inventory (краткому перечню боли) по сравнению с ИМС. Описанный эффект также сопровождался значительным уменьшением ощущения холодного и горячего с соответствующим повышением порогов температурной болевой чувствительности, что по заключению авторов, может быть отражением как прямых, так и косвенных изменений в активационных парадигмах, вызванных рТМС. В 2016 г. М. Ambriz-Tututi и соавт. [42] провели РКИ для изучения эффективности рТМС у пациентов с ХБНЧС. Сорок один пациент после проведения рТМС 8-образным индуктором частотой 20 Гц в проекции зоны коры М1 отметил снижение боли от исходного уровня почти на 80% к 3-й нед. лечения, что было значительно эффективнее, чем у пациентов, которые получили ИМС (12 человек) или лечебную физкультуру — ЛФК (26 пациентов). В недавнем исследовании И.В. Бородулиной и соавт. [50] идентичное количество пациентов (41 человек) с хронической пояснично-крестцовой радикулопатией получили комплексное лечение, включавшее рТМС и общие гидрогальванические ванны без назначения лекарственной терапии. Протокол стимуляции также предполагал воздействие 8-образным индуктором на корковую область М1 контралатерально пораженной нижней конечности, однако с меньшей частотой (10 Гц), но вдвое большим количеством сеансов (10 ежедневных процедур, исключая выходные дни). Авторами было отмечено статистически значимое снижение интенсивности ноцицептив-

ного и нейропатического компонентов болевого синдрома по всем опросникам, с наибольшим эффектом при оценке по шкале PainDetect ($p=0,002$ по критерию Вилкоксона). При этом анализ отдаленных результатов (через 3 мес после окончания лечения) показал, что отсроченный эффект статистически значимо нарастал по сравнению с контрольной группой, которая получала только медикаментозную терапию, где первоначальное улучшение на фоне проводимой терапии уже угасало. Кроме того, у пациентов после рТМС было выявлено уменьшение депрессии, улучшение качества жизни, проявляющееся в изменении психического и физического благополучия, а также уменьшения степени ограничения жизнедеятельности, связанного с патологией позвоночника. Два описания клинических случаев [51, 52] также сообщили, что лечение рТМС позволило снизить боль у 4 пациентов с хронической дорсалгией и депрессией.

Поскольку средства традиционно назначаемой фармакотерапии и другие методы лечения и реабилитации (ЛФК или ЧЭНС) часто оказываются недостаточно эффективными в ряде случаев ХБНЧС, нейростимулирующий потенциал рТМС может быть применен в качестве дополнительного средства для уменьшения боли и активации восстановительных процессов постурального контроля в зоне М1. Вместе с тем, несмотря на имеющиеся исследования, указывающие на то, что рТМС эффективна для данных пациентов, требуется набор большего количества определенных доказательств, собранных в сопоставимых клинико-методических условиях.

Попытка авторов настоящего обзора провести мета-анализ по отобраным публикациям, изучавшим эффективность рТМС при ХБНЧС, натолкнулась на повышенную разнородность исследований и невозможность унификации данных. Из трех потенциальных РКИ, в работе S. Johnson и соавт. [49] оценка выраженности болевого синдрома основывалась на результатах применения краткого перечня боли, в котором вычисляется среднее значение наибольшей, наименьшей, усредненной по мнению пациента и испытываемой в настоящий момент боли по 11-балльной шкале. М. Ambriz-Tututi и соавт. [42] не указали цифровых значений ВАШ в тексте статьи, а в публикации И.В. Бородулиной и соавт. [50] данные ВАШ представлены только в виде медиан и квартилей, что, при определенном допущении, возможно пересчитать, однако дизайн исследования подразумевал оценку экспериментальной методики только в комплексе с общими гидрогальваническими ваннами при отсутствии контрольной группы, получавшей ИМС.

Заключение

Настоящий обзор демонстрирует накопленные к моменту его публикации литературные данные, подтверждающие, что ритмическая магнитная стимуляция может быть альтернативным патогенетически обоснованным терапевтическим методом для пациентов с ХБНЧС в классическом понимании трансляционной медицины. Нами предпринята попытка систематизировать разрозненную информацию по эффективности рТМС, впервые прицельно сконцентрировав внимание профессионального сообщества на ее применении при этом актуальном недуге человечества. Методика, как представляется, зарекомендовала себя в кратковременном облегчении хронической дорсалгии, в то время как долгосрочные последствия рТМС (>3 мес) должны быть исследованы далее. Для уточнения ее эффективности у пациентов с ХБНЧС требуется последующий набор тщательно продуманных РКИ как по дизайну, так и специфике «ослепления» участников. Кроме того, различные факторы, связанные с унификацией пока еще разнородных экспериментальных протоколов стимуляции, включая форму подачи импульсов, частоту, место приложения, регулярность и продолжительность терапии, могут повлиять на дальнейшую надлежащую трактовку ее результатов.

По совокупности причин данный обзор не полностью реализовал возможность представить исчерпывающие доказательства, полученные в результате анализа отобранных работ по исследуемой проблеме для практикующих специалистов, и он будет продолжен с акцентом на результатах изучения эффективности использования другой разновидности высокоинтенсивной импульсной магнитотерапии – рТсМС. Между тем накопленные теоретические аспекты и неугасаемый энтузиазм исследователей позволяют отметить определенную ценность полученной информации в условиях изменяющихся подходов к терапии современных моделей заболеваний, охватывающих треть по обращаемости пациентов в популяции.

Литература

(п.п. 1-13; 15-19; 21; 24-33; 36; 37; 41-49; 51-53 см. References)

14. Методические рекомендации по диагностике и лечению невропатической боли / Под ред. Н.Н. Яхно. М.: Изд-во РАМН, 2008.

20. Гореликов А.Е., Мельникова Е.А., Рудь И.М. Магнитная стимуляция в лечении и реабилитации больных с заболеваниями нервной системы и позвоночника. *Медицинская реабилитация*. 2017; 11(140): 46-50.

22. Давыдов О.С., Яхно Н.Н., Кукушкин М.Л., Чурюканов М.В., Абузарова Г.Р., Амелин А.В. и др. Невропатическая Боль: Клинические рекомендации по диагностике и лечению Рос-

сийского общества по изучению боли. *Российский журнал боли*. 2018; 4: 5-41.

23. Улащик В.С., Плетнев А.С., Войченко Н.В., Плетнев С.В. *Магнитотерапия: теоретические основы и практическое применение* / под ред. В.С. Улащика. Минск: Беларуская навука; 2015. ISBN 978-985-08-1853-9.

34. Войтенков В.Б., Екушева Е.В., Скрипченко Н.В., Дамулин И.В. Транскраниальная магнитная стимуляция в диагностике и терапии болевых синдромов у детей и взрослых. *Журн. неврол. и психиатр.* 2019; 4: 93-9.

35. Блохина В.Н., Николаев С.Г., Кузнецов А.Н., Меликян Э.Г. Применение ритмической периферической магнитной стимуляции (РПМС). *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова*. 2016; 11(3): 111-7.

38. Меркулов Ю.А., Меркулова Д.М., Крыжановский Г.Н. Эффективность терапевтического влияния Дексалгина на вертеброгенные и невертеброгенные механизмы дисрегуляции при болях в спине. *Журн. неврол. и психиатр. им. Корсакова*. 2006; 5 (106): 20-4.

39. Меркулов Ю.А., Путилина М.В., Гришин Д.В., Меркулова Д.М. Оптимальный алгоритм комбинированной терапии при дорсопатии. *Врач*. 2012; 9: 73-7.

40. Кукушкин М.Л. Диагностика и лечение неспецифической боли в нижней части спины. *Патогенез*. 2012; 4: 2-8.

50. Бородулина И.В., Бадалов Н.Г., Мухина А.А., Гуша А.О. Оценка эффективности комплексного лечения с применением ритмической транскраниальной магнитной стимуляции и общих гидрогальванических ванн у пациентов с пояснично-крестцовой радикулопатией. *Вестник восстановительной медицины*. 2019; 1(89): 33-41

References

1. Institute of Medicine (US) Committee on Advancing Pain Research, Care, and Education. *Relieving Pain in America: A Blueprint for Transforming Prevention, Care, Education, and Research*. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. PMID: 22553896.

2. *The American Academy of Pain Medicine. AAPM Facts and Figures on Pain*. Online: http://www.painmed.org/patientcenter/facts_on_pain.aspx#america

3. Woolf C.J. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain*. 2011 Mar; 152(3 Suppl): S2-S15. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.09.030>

4. Staud R., Craggs J.G., Robinson M.E., Perlstein W.M., Price D.D. Brain activity related to temporal summation of C-fiber evoked pain. *Pain*. 2007 May; 129(1-2): 130-42. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2006.10.010>

5. Nijs J., Kosek E., Van Oosterwijck J., Meeus M. Dysfunctional endogenous analgesia during exercise in patients with chronic pain: to exercise or not to exercise? *Pain Physician*. 2012 Jul; 15(3 Suppl):ES205-13.

6. Kuppens K., Hans G., Roussel N., Struyf F., Fransens E., Cras P., et al. Sensory processing and central pain modulation in patients with chronic shoulder pain: A case-control study. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2018; 28(3): 1183–92. <https://doi.org/10.1111/sms.12982>

7. Nakamura M., Nishiwaki Y., Sumitani M., Ushida T., Yamashita T., Konno, S., et al. Investigation of chronic musculoskeletal pain (third report): with special reference to the importance of neu-

- ropathic pain and psychogenic pain. *Journal of Orthopaedic Science*. 2014; 19(4): 667–75. <https://doi.org/10.1007/s00776-014-0567-6>
8. Dunne F.J., Getachew H., Cullenbrooke F., Dunne C. Pain and pain syndromes. *British Journal of Hospital Medicine (London)*. 2018; 79(8): 449–53. <https://doi.org/10.12968/hmed.2018.79.8.449>
 9. Nijs J., Apeldoorn A., Hallegraef H., Clark J., Smeets R., Malfliet A., Girbes E.L., De Kooning M., Ickmans K. Low back pain: Guidelines for the clinical classification of predominant neuropathic, nociceptive, or central sensitization pain. *Pain Physician*. 2015; 18: E333–E346
 10. Massé-Alarie H., Schneider C. Revisiting the Corticomotor Plasticity in Low Back Pain: Challenges and Perspectives. *Healthcare*. 2016; 4(3): 67. <https://doi.org/10.3390/healthcare4030067>
 11. Snekkvik H., Eriksen H.R., Tangen T., Chalder T., & Reme, S.E. Fatigue and depression in sick-listed chronic low back pain patients. *Pain Medicine*. 2014; 15(7): 1163–70. <https://doi.org/10.1111/pme.12435>
 12. Lerman S.F., Rudich Z., Brill S., Shalev H., Shahar G. Longitudinal associations between depression, anxiety, pain, and pain-related disability in chronic pain patients. *Psychosomatic Medicine*. 2015; 77(3): 333–41. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000158>
 13. Hall-Flavin D.K. Is there a link between pain and depression? Can depression cause pain? March 11, 2016. Mayo Clinic. Online: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/depression/expert-answers/pain-and-depression/faq-20057823>
 14. *Guidelines for the diagnosis and treatment of neuropathic pain / Edited by N.N. Yakhno. Moscow: Publishing house of the Russian Academy of Medical Sciences. [Metodicheskoe rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu neyropaticheskoy boli / Pod red. N.N. Yakhno. Moscow: Izdatelstvo RAMN]. 2008. (in Russian)*
 15. Johnson M.I., Claydon L.S., Herbison G.P., Jones G., Paley C.A. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) for fibromyalgia in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Oct 9; 10(10):CD012172. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012172.pub2>
 16. Gibson W, Wand BM, O'Connell NE. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) for neuropathic pain in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Sep 14; 9(9):CD011976. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011976.pub2>
 17. Khadilkar A., Odebiyi D.O., Brosseau L., Wells G.A. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) versus placebo for chronic low-back pain. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008 Oct 8; 2008(4):CD003008. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003008.pub3>
 18. Brosseau L., Judd M.G., Marchand S., Robinson V.A., Tugwell P., Wells G., Yonge K. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) for the treatment of rheumatoid arthritis in the hand. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003; (3):CD004377. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004377>
 19. Johnson M.I., Mulvey M.R., Bagnall A.M. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) for phantom pain and stump pain following amputation in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Aug 18; 8(8):CD007264. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007264.pub3>
 20. Gorelikov A.E., Melnikova E.A., Rud I.M. Magnetic stimulation in the treatment and rehabilitation of patients with diseases of the nervous system and spine. *Meditsinskaya Reabilitatsiya*. 2017; 11(140): 46–50. (in Russian)
 21. Galhardoni R., Correia G.S., Araujo H., Yeng L.T., Fernandes D.T., Kaziyama H.H., et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation in chronic pain: a review of the literature. *Arch Phys Med Rehabil*. 2015 Apr; 96(4 Suppl): S156–72. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2014.11.010>
 22. Davydov O.S., Yakhno N.N., Kukushkin M.L., Churyukanov M.V., Abuzarova G.R., Amelin A.V., et al. Neuropathic Pain: Clinical Recommendations for Diagnosis and Treatment of the Russian Society for the Study of Pain. *Rossiyskiy Zhurnal Boli*. 2018; 4: 5–41. (in Russian)
 23. Ulashchik V.S., Pletnev A.S., Voychenko N.V., Pletnev S.V. *Magneto-therapy: theoretical foundations and practical application / ed. C.S. Ulashchik. [Magnitoterapiya: teoreticheskie osnovy i prakticheskoe primeneniye] / pod red. V.S. Ulashchika. Minsk: Belaruskaya navuka; 2015. ISBN 978-985-08-1853-9. (in Russian)*
 24. Barker A.T., Jalinous R., Freeston I.L. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet*. 1985; 1: 1106–7.
 25. Pascual-Leone A., Valls-Sole J., Wassermann E.M., Hallett M. Responses to rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. *Brain*. 1994; 117: 847–58.
 26. Pascual-Leone A., Tormos J.M., Keenan J., Tarazona F., Canete C., Catala M.D. Study and modulation of human cortical excitability with transcranial magnetic stimulation. *J Clin Neurophysiol*. 1998; 15: 333–43
 27. George M.S., Wassermann E.M., Williams W.A., Callahan A., Ketter T.A., Basser P., Hallett M., Post R.M. Daily repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) improves mood in depression. *Neuroreport*. 1995; 6: 1853–6.
 28. Pascual-Leone A., Rubio B., Pallardo F., Catala M.D. Rapid-rate transcranial magnetic stimulation of left dorsolateral prefrontal cortex in drug-resistant depression. *Lancet*. 1996; 348: 233–7.
 29. Tsubokawa T., Katayama Y., Yamamoto T., Hirayama T., Koyama S. Treatment of thalamic pain by chronic motor cortex stimulation. *Pacing Clin Electrophysiol*. 1991; 14: 131–4.
 30. Lefaucheur J.P., Drouot X., Keravel Y., Nguyen J.P. Pain relief induced by repetitive transcranial magnetic stimulation of precentral cortex. *NeuroReport*. 2001; 12: 2963–5.
 31. Lefaucheur J.P., Drouot X., Nguyen J.P. Interventional neurophysiology for pain control: duration of pain relief following repetitive transcranial magnetic stimulation of the motor cortex. *Neurophysiol Clin*. 2001; 31: 247–52.
 32. Lefaucheur J.P., Menard-Lefaucheur I., Goujon C., Keravel Y., Nguyen J.P. Predictive value of rTMS in the identification of responders to epidural motor cortex stimulation therapy for pain. *J Pain*. 2011; 12: 1102–11.
 33. Lefaucheur J.P., et al. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS). *Clin Neurophysiol*. 2014; 125(11): 2150–206.
 34. Voytenkov V.B., Ekusheva E.V., Skripchenko N.V., Damulin I.V. Transcranial magnetic stimulation in the diagnosis and therapy of pain syndromes in children and adults. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii*. 2019; 4: 93–9. (in Russian)
 35. Blokhina V.N., Nikolaev S.G., Kuznetsov A.N., Melikyan E.G. Application of rhythmic peripheral magnetic stimulation (RPMS). *Vestnik Natsionalnogo mediko-khirurgicheskogo tsentra imeni N.I. Pirogova*. 2016; 11 (3): 111–7. (in Russian)
 36. Yang S., Chang M.C. Effect of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation on Pain Management: A Systematic Narrative Review. *Front. Neurol*. 2020; 11: 114. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00114>
 37. Lee P.B., Kim Y.C., Lim Y.J., Lee C.J., Choi S.S., Park S.H., et al. Efficacy of pulsed electromagnetic therapy for chronic lower back pain:

- A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J. Int. Med. Res.* 2006; 34(2): 160–7. <https://doi.org/10.1177/147323000603400205>
38. Merkulov Y.A., Merkulova D.M., Kryzhanovsky G.N. Efficiency of therapeutic effect of Dexamlin on vertebrogenic and non-vertebrogenic mechanisms of dysregulation in back pain. *Zhurnal nevrologii i psykhiatrii imeni Korsakova.* 2006; 5(106): 20–2. (in Russian)
 39. Merkulov Y.A., Putilina M.V., Grishin D.V., Merkulova D.M. Optimal algorithm of combined therapy for dorsopathy. *Vrach.* 2012; 9: 73–7. (in Russian)
 40. Kukushkin M.L. Diagnosis and treatment of nonspecific low back pain. *Pathogenez.* 2012; 4: 2–8. (in Russian)
 41. Chiou S.Y., Shih Y.F., Chou L.W., McGregor A.H., Stratton P.H. Impaired neural drive in patients with low back pain. *Eur. J. Pain (United Kingdom).* 2014; 18(6): 794–802. <https://doi.org/10.1002/j.1532-2149.2013.00428.x>
 42. Ambriz-Tututi M., Alvarado-Reynoso B., Drucker-Colin R. Analgesic effect of repetitive transcranial magnetic stimulation. (rTMS) in patients with chronic low back pain. *Bioelectromagnetics.* 2016; 37: 527–35. <https://doi.org/10.1002/bem.22001>
 43. Wasserman E.M., Epstein C.M., Ziemann U., et al. The Oxford Handbook of Transcranial Stimulation. Oxford: Oxford University Press, 2008; Lefaucheur JP. Use of repetitive transcranial magnetic stimulation in pain relief. *Exp Rev Neurother.* 2008; 8: 799–808. <https://doi.org/10.1586/14737175.8.5.799>
 44. Plow E.B., Pascual-Leone A., Machado A. Brain stimulation in the treatment of chronic neuropathic and non-cancerous pain. *J. Pain.* 2012; 13: 411–24.
 45. Ohn S.H., Chang W.H., Park C.H. et al. Neural correlates of the antinociceptive effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on central pain after stroke. *Neurorehabil. Neural. Repair.* 2012; 26: 344–52.
 46. Garcia-Larrea L., Peyron R., Mertens P., Gregoire M.C., Lavenne F., Le Bars D., et al. Electrical stimulation of motor cortex for pain control: a combined PET-scan and electrophysiological study. *Pain.* 1999; 83: 259–73.
 47. Leung A., Donohue M., Xu R., Lee R., Lefaucheur J.P., Khedr E.M., et al. rTMS for suppressing neuropathic pain: a meta-analysis. *J. Pain.* 2009; 10: 1205–16. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2009.03.010>
 48. Choi G.S., Chang M.C. Effects of high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation on reducing hemiplegic shoulder pain in patients with chronic stroke: a randomized controlled trial. *Int J Neurosci.* 2018; 128: 110–6. <https://doi.org/10.1080/00207454.2017.1367682>
 49. Johnson S., Summers J., Pridmore S. Changes to somatosensory detection and pain thresholds following high frequency repetitive TMS of the motor cortex in individuals suffering from chronic pain. *Pain.* 2006; 123(1): 187–92. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2006.02.030>
 50. Borodulina I.V., Badalov N.G., Mukhina A.A., Gushcha A.O. Assessment of the effectiveness of complex treatment with rhythmic transcranial magnetic stimulation and general hydro galvanic baths in patients with lumbosacral radiculopathy. *Vestnik vosstanovitel'noy meditsiny.* 2019; 1(89): 33–41. (in Russian)
 51. Park E.J., Lee S.J., Koh D.Y., Han Y.M. Repetitive transcranial stimulation to treat depression and insomnia with chronic low back pain. *Korean J Pain.* 2014; 27: 285–9. <https://doi.org/10.3344/kjp.2014.27.3.285>
 52. Yates E., Balu G. Deep transcranial magnetic stimulation: a promising drug-free treatment modality in the treatment of chronic low back pain. *Del Med J.* 2016; 88: 90–2
 53. Moher D., Liberati A., Tetzlaff J., Altman D.G.; PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med.* 2009 Jul 21; 6(7): e1000097. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>

Сведения об авторах:

Меркулов Юрий Александрович, доктор мед. наук, гл. науч. сотр., e-mail: 4181220@gmail.com;

Гореликов Андрей Евгеньевич, зав. отд-нием медицинской реабилитации, e-mail: winstonone@bk.ru;

Пятков Артем Александрович, канд. мед. наук, врач-невролог, e-mail: contradolor@mail.ru;

Меркулова Дина Мироновна, доктор мед. наук, проф. каф. нервных болезней, руководитель неврологического центра, e-mail: dinamerk@mail.ru

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616.322.2-02-092-071

Начаров П.В., Коноплев О.И., Преображенская Ю.С., Дроздова М.В., Захарова Г.П.

Этиологические аспекты проблемы хронического тонзиллита

ФГБУ «Санкт-Петербургский НИИ уха, горла, носа и речи» Минздрава России,
190013, Санкт-Петербург, Россия, Бронницкая ул., д. 9

Хронический тонзиллит характеризуется воспалительным процессом инфекционного генеза, но конкретный возбудитель до настоящего времени не идентифицирован. Продолжают появляться публикации, содержащие новые сведения о спектре микрофлоры в небных миндалинах. В обзоре представлены наиболее интересные из них. Этиологическое значение в развитии хронического тонзиллита какого-либо одного или ассоциации нескольких микроорганизмов пока остаётся обсуждаемым. Обращает на себя внимание обилие видов микроорганизмов, представителей всех царств микробов, которые сопровождают хроническое воспаление и гипертрофию небных миндалин. Кроме того, имеются сведения о нарушении барьерной функции системы иммунитета при данном заболевании. Обсуждается вопрос, чему принадлежит иницирующая роль в формировании хронического тонзиллита – патогенной активности микрофлоры или изначальному ослаблению иммунной защиты организма. Это обуславливает трудности в диагностике, необходимой для принятия решения о выборе способа лечения.

Ключевые слова: хронический тонзиллит; этиология; небные миндалины; микрофлора; диагностика**Для цитирования:** Начаров П.В., Коноплев О.И., Преображенская Ю.С., Дроздова М.В., Захарова Г.П. Этиологические аспекты проблемы хронического тонзиллита. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(3): 91-97.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.91-97

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Начаров П.В., Коноплев О.И.; сбор и изучение источников – Начаров П.В., Преображенская Ю.С.; написание текста – Начаров П.В., Захарова Г.П., редактирование текста – Дроздова М.В. Обсуждение окончательной версии статьи – все авторы.**Для корреспонденции:** Начаров Петр Васильевич, e-mail: nacharov@bk.ru**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 27.12.2019

Принята к печати 30.06.2021

Опубликована 30.09.2021

Nacharov P.V., Konoplev O.I., Preobrazhenskaya Yu.S., Drozdova M.V., Zakharova G.P.

Etiological issues of chronic tonsillitis

Saint Petersburg Research Institute of Ear, Throat, Nose, and Speech,
Saint Petersburg, Russia

Chronic tonsillitis is characterized by the inflammatory process of infectious genesis, however, a specific pathogen has not been identified yet. Publications that continue to appear contain new information about the spectrum of microflora in the tonsils. This review presents the most interesting of them. The etiological significance of any single microorganism or an association of several ones in the development of chronic tonsillitis is still under discussion. Of interest is the abundance of microorganism species that represent all three kingdoms of microbes and accompany chronic inflammation and hypertrophy of the tonsils. In addition, information is available about disturbance of the barrier function of the immune system in this disease. A question is debated whether the development of chronic tonsillitis is initiated primarily by the pathogenic activity of microflora or by the initial weakening of the immune defense. This leads to difficulties in the diagnosis required to make a decision on the choice of treatment.

Keywords: chronic tonsillitis; etiology; palatine tonsils; microflora; diagnosis**For citation:** Nacharov P.V., Konoplev O.I., Preobrazhenskaya Yu.S., Drozdova M.V., Zakharova G.P. Etiological issues of chronic tonsillitis. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal).* 2021; 65(3): 91-97. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.91-97

Contribution: research concept and design – Nacharov P.V., Konoplev O.I.; material collecting – Nacharov P.V., Preobrazhenskaya Yu.S.; writing text – Nacharov P.V., Zakharova G.P.; text editing – Drozdova M.V.; approval of the final version of the article – all co-authors.

For correspondence: Petr V. Nacharov, Doctor of Medical Sciences, head of pathological physiology department, Federal State Budgetary Institution «Saint Petersburg Research Institute of Ear, Throat, Nose and Speech», Ministry of Health of the Russian Federation, nacharov@bk.ru

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

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

Information about the authors:

Nacharov P.V., <https://orcid.org/0000-0002-2222-1977>

Konoplev O.I., <https://orcid.org/0000-0002-2811-5462>

Preobrazhenskaya Yu.S., <https://orcid.org/0000-0001-8136-4057>

Drozdova M.V., <https://orcid.org/0000-0001-8883-498X>

Zakharova G.P., <https://orcid.org/0000-0003-4779-4058>

Received: 27.12.2019

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

Введение

Проблема хронического тонзиллита остаётся одной из актуальных в оториноларингологии в связи с широкой распространённостью этой патологии среди населения и развитием осложнений [1-3]. Кроме того, до настоящего времени нет единого мнения об этиологии и нет ясности понимания истинных патогенетических механизмов формирования и поддержания хронического воспалительного процесса в нёбных миндалинах, что отражено в разнообразии мнений в отношении показаний для оперативного лечения [4].

В структуре лимфоэпителиального глоточного кольца Вальдейера – Пирогова нёбные миндалины играют важную роль в защите организма от вдыхаемых и заглатываемых чужеродных микроорганизмов [5, 6]. Поэтому в целях сохранения нёбных миндалин как важного органа иммунной системы в последние десятилетия в оториноларингологии сделан акцент на консервативные методы лечения хронического тонзиллита, включающие и этиотропную терапию, для применения которой требуется этиологическая диагностика. Вместе с тем в настоящее время наблюдается рост числа постстрептококковых осложнений у больных хроническим тонзиллитом [7], что, возможно, обусловлено ошибочным выбором методов консервативного лечения вследствие отсутствия адекватных алгоритмов этиологической диагностики.

Проблемы этиологической диагностики хронического тонзиллита. Считается, что анамнестическая связь хронического тонзиллита с ангинами, острыми респираторными вирусными инфекциями, скарлатиной доказывает этиологическую роль инфекционного фактора в формировании заболевания и его последующего течения. Однако, это утверждение не совсем правомерно, т.к. в детском возрасте практически все переносят указанные инфекционные заболевания, а хроническим тонзиллитом заболевает только часть людей. Кроме того, существует большая группа паци-

ентов с диагнозом «простая форма хронического тонзиллита», у которых в анамнезе не было установлено ни одной ангины [8]. Таким образом, нельзя исключить как первичное развитие хронического воспаления нёбных миндалин, так и вторичное – когда повреждающий фактор не был элиминирован в результате острого воспаления.

Составить объективное представление об этиологии хронического тонзиллита является в настоящее время непростой задачей, т.к. данные литературы о видовом составе микрофлоры в нёбных миндалинах и её значении в развитии тонзиллярной патологии весьма многочисленны и неоднозначны. При хроническом тонзиллите в нёбных миндалинах выявляют различные виды стрептококков, стафилококков, дрожжевых и дрожжеподобных грибов, вирусов, в том числе патогенных и условно-патогенных, вызывающих ряд заболеваний [9, 10].

Значение микробной флоры в этиологии хронического тонзиллита. Наибольшее значение в этиологии хронического тонзиллита и его осложнений придаётся β-гемолитическому стрептококку группы А (БГСА) [11, 12]. При этом бессимптомное носительство *Streptococcus pyogenes*, одного из представителей БГСА, отмечено, по данным российских авторов, в ротоглотке у 15–20 % детей и у 5 % взрослых [13]. По зарубежным данным метаанализа, частота бессимптомного БГСАносительства среди детей колеблется от 5,9% (4,3–8,1%) в странах с низким и средним уровнем дохода до 10,5% (8,4–12,9%) в странах с высоким уровнем дохода [14]. Относительно выявляемости БГСА в нёбных миндалинах при хроническом тонзиллите в научной литературе имеются еще более различающиеся данные: от 5,1-18% случаев [15-17] до 100% случаев [18].

Наряду со стрептококками в последнее время обсуждается роль патогенных стафилококков как одного

из этиологических факторов патогенеза хронического тонзиллита, поскольку эти бактерии в нёбных миндалинах определяются чаще, чем патогенные стрептококки [16]. Есть мнение, что способность золотистого стафилококка к длительной внутриклеточной персистенции при хроническом воспалении является подтверждением его этиологического значения в тонзиллярной патологии [19, 20].

Обнаружено, что колонизация *Helicobacter pylori* на нёбных миндалинах происходит более часто при хроническом тонзиллите. Однако в проведенных исследованиях не было представлено доказательств, что эта бактерия играет роль этиологического фактора в патогенезе хронического тонзиллита [21, 22]. Вместе с тем, показано, что воздействие табачного дыма в окружающей среде является патогенетическим фактором риска развития хронического тонзиллита у детей с инфекцией *Helicobacter pylori* [23].

G. Piacentini и соавт. выявили *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydia pneumoniae* в тканях нёбных миндалин (в 10,9% и 18,2% случаев соответственно) у детей, подвергшихся тонзиллэктомии на основании повторных инфекционных заболеваний верхних дыхательных путей, что, по мнению авторов, указывает на их значение как этиологических факторов хронического тонзиллита и сопутствующих частых инфекций [24]. Вместе с тем, невысокая выявляемость этих патогенов свидетельствует об их предположительном этиологическом значении только у небольшой части детей, больных хроническим тонзиллитом.

О.Ю. Борисовой и соавт. охарактеризован микробный пейзаж у больных с тонзиллярной патологией с идентификацией 18 видов коринебактерий, которые составили существенную долю (36,9%) от общего количества выделенных штаммов [15].

Дрожжеподобные грибы рода *Candida* в нёбных миндалинах обнаруживаются значительно чаще у больных хроническим тонзиллитом, чем у здоровых людей [25, 26]. Примечательно, что в этой группе пациентов наблюдается уменьшение количества лимфоцитов CD8+ и дисиммуноглобулинемия [27].

В нёбных миндалинах, удалённых у детей по поводу рецидивирующего тонзиллита, обнаружена ДНК вируса Эпштейна – Барр (ВЭБ) в 75% случаев [28]. В работе В.П. Быковой и соавт. методом хромогенной *in situ* гибридизации показано, что у больных хроническим тонзиллитом наблюдается тропизм вируса Эпштейна – Барр не только к лимфоцитам нёбных миндалин, но и к эпителиальным клеткам в составе покровного и криптального эпителия [29]. На основании этого авторы делают вывод, что вирус Эпштей-

на–Барр играет прямую и косвенную роль в формировании хронического тонзиллита. Однако следует заметить, что в обоих исследованиях отсутствовала группа контроля. Вместе с тем показано, что частота нарушений в системе гемостаза у детей с хроническим тонзиллитом возрастает на фоне активной фазы ВЭБ-инфекции, которая опосредует развитие интра- и послеоперационных кровотечений при тонзиллэктомии [30].

У пациентов с хронической воспалительной патологией ротоглотки установлена более высокая частота встречаемости вирусных инфекций семейств *Herpes viridae* и *Papilloma viridae*, сопровождающихся специфическими изменениями эпителия и неспецифическими цитопатическими изменениями [31]. Данный факт скорее косвенно указывает на ослабление противовирусной защиты организма при данной патологии, чем является свидетельством этиологической роли вирусов герпеса и папилломы в патогенезе хронического тонзиллита.

Имеются данные о роли микробных ассоциаций в этиологии хронического тонзиллита. Так, в период обострений хронического тонзиллита ассоциации патогенного стафилококка и гриба рода *Candida* обнаруживали в лакунах нёбных миндалин в 2 раза чаще, чем в период между обострениями [32]. Хронический тонзиллит, вызванный бактериально-грибковой флорой, отличается более тяжёлым течением, высокой частотой декомпенсации, резистентностью к стандартной антимикробной терапии [33].

В аспирате из лакун нёбных миндалин больных хроническим тонзиллитом выявлено преобладание (41% случаев) ассоциации золотистого стафилококка и БГСА [16]. У больных с осложнёнными тонзиллитами чаще обнаруживаются ассоциации золотистого стафилококка с БГСА, что указывает на усиление их патогенного воздействия на организм [34]. Однако в работе О.Ю. Борисовой и соавт., напротив, «при выраженном патологическом процессе в микробиоте ротоглотки наблюдалось превалирование монокультуры, в то время как наличие ассоциаций свидетельствовало о менее выраженном патологическом процессе» [15].

Кроме стафилококко-стрептококковых ассоциаций в нёбных миндалинах при хроническом тонзиллите выявляются и другие сочетания микроорганизмов, но результаты анализа ДНК микроорганизмов в лакунах нёбных миндалин свидетельствуют о преимущественном обсеменении *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella intermedia* и *Prevotella histicola* [35].

При оценке микробиоты нёбных миндалин необходимо учитывать сопутствующие заболевания, вносящие свои особенности в её состав. Так, при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у пациен-

тов с хроническим тонзиллитом лакунарный микробиом характеризуется пятикратным увеличением доли энтерофлоры (*Enterobacter cloacae*, *Enterococcus*, *E. coli* и пр.) [36].

Ещё одним препятствием для объективной оценки этиологического значения выявленной микрофлоры является различие результатов бактериологического исследования материала, полученного со слизистой оболочки глотки и небных миндалин (мазок), и аспирата из лакун небных миндалин. Так, нами было показано, что *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus spp.* из лакун небных миндалин высевались в 1,5 раза чаще, чем со слизистой оболочки глотки [37]. S.N. Наг и соавт. (2017) получили ещё более убедительные данные: в мазке микрофлора соответствовала результатам посева аспирата из лакун на 78%, а из сердцевины удалённой небной миндалины — только на 12% [38].

Изменения нормальной микрофлоры при хроническом тонзиллите. Результаты многих исследований свидетельствуют, что в обычных условиях слизистую оболочку небных миндалин населяет та же микрофлора, что высевается и при хроническом тонзиллите [39, 40]. Так, нормальная микрофлора слизистой оболочки глотки и небных миндалин представлена в основном (до 70%) стрептококками *Str. viridans*, *Str. anhaemolyticus*, *Str. conglomeratus*, *Str. lactis*, *Str. salivarius*, а обсемененность *Str. epidermidis* и *Staph. aureus* составляет до 40% [41]. По мнению В.Т. Пальчуна (2016), возникновение хронического тонзиллита может быть связано с активацией непатогенной сапрофитной флоры верхних дыхательных путей [42].

Нормальная микрофлора организма является неспецифическим барьером защиты [19]. В настоящее время накоплены данные, свидетельствующие, что организм человека и комменсальная микрофлора составляют единую взаимовыгодную систему [43, 44]. Показано, что микробиота необходима для нормального физиологического развития ряда важных органов [45], а также играет важную роль в обеспечении барьерной функции слизистых оболочек, а её дисбиотические изменения, в том числе и в небных миндалинах, сопровождаются развитием патологических состояний [19, 46]. Обращает на себя внимание существенное снижение колонизации небных миндалин *Lactobacterium spp.* и *Bifidobacterium spp.* у больных хроническим тонзиллитом [16]. Вместе с тем, существующие данные о спектре микрофлоры при хроническом тонзиллите не позволяют оценивать степень угнетения иммунологической функции небных миндалин, что важно для определения стадии декомпенсации и принятия решения об оперативном способе лечения.

По мнению В.В. Гофмана и Н.Н. Плужникова «в основе хронического тонзиллита ведущим фактором является дисбиотическое состояние слизистой оболочки небных миндалин как локальное проявление системного микрoэкологического дисбаланса организма» [47]. Одним из факторов, изменяющих состав микробиоты, являются вирусные инфекции. Так, у здоровых детей даже один эпизод ОРВИ может уменьшить состав микробиоты слизистой оболочки носоглотки [48].

Заключение

Что первично в формировании хронического тонзиллита, патогенная активность микробов или изначальное ослабление иммунной защиты организма? На этот вопрос, дискутируемый до сих пор, пока нет однозначного ответа. Вместе с тем, нельзя не учитывать следующие факты. Обилие видов микроорганизмов, выявляемых при хроническом воспалении в небных миндалинах, свидетельствует об отсутствии специфических патогенов, которые можно было бы считать возбудителями хронического тонзиллита [8, 49]. Кроме того, в обычных условиях слизистую оболочку небных миндалин населяет та же микрофлора, которая высевается при хроническом тонзиллите [39-41]. Учитывая эти данные, а также тот факт, что длительная персистенция патогенных микроорганизмов в небных миндалинах происходит на фоне общих и локальных нарушений системы иммунитета больных [27, 50], можно предположить о наиболее вероятном участии в патогенезе хронического тонзиллита обоих видов этиологических факторов — экзогенного, к которому относится микрофлора, и эндогенного, включающего снижение иммунологической реактивности организма.

Вопрос первичности возбудителя или нарушения защиты организма носит не столько теоретический, сколько практический характер. В случае выявления ведущей этиологической роли патогенной микрофлоры возникает вопрос об антимикробной терапии, а при установлении наибольшего значения повреждения иммунной системы, в первую очередь факторов врождённого иммунитета, — об иммунокорректирующих методах лечения. Не следует исключать и возможную эффективность комплексной терапии.

Литература

(п.п. 5; 6; 10; 12; 14; 20-24; 27; 28; 35; 38;41; 43-46; 48; 50 см. References)

1. Арефьева Н.А. Тонзиллярная патология. Современное состояние проблемы. *Вестник оториноларингологии*. 2012; 6: 10 – 3.

2. Карпищенко С.А., Лавренова Г.В., Баранская С.В. Тонзиллит и тонзиллогенные заболевания. *Вестн. оториноларинголог.* 2016; 4: 69 – 71.
3. Пальчун В.Т., Гуров А.В., Гусева О.А. Патогенетические особенности формирования хронической тонзиллярной патологии. *Вестник оториноларингологии.* 2018; 2: 30 – 3.
4. Дергачёв В.С., Дергачёва Т.И. К вопросу классификации хронического тонзиллита. *Российская оториноларингология.* 2009; 3: 4 – 8.
7. Власова Т.М., Бойко Н.В. Рост числа постстрептококковых осложнений у больных хроническим тонзиллитом. *Российская оториноларингология.* 2015; S1: 45 – 7.
8. Косяков С.Я., Анготоева И.Б., Мулдашева А.А. Диагностика и лечение простой формы хронического тонзиллита у пациентов с ларингофарингеальным рефлюксом. *Российская оториноларингология.* 2016; 1: 42 – 7.
9. Рыбак Н.А., Цыркунов В.М., Рыбак Р.Ф. Микробиоценоз небных миндалин при хроническом тонзиллите. *Здравоохранение (Минск).* 2014; 12: 2 – 7.
11. Мальцева Г.С. Стрептококковая инфекция при хроническом тонзиллите. *Consilium Medicum.* 2009; 3: 71 – 7.
13. Шпынев К.В., Кречикова О.И., Кречиков В.А., Козлов Р.С. Streptococcus ruogenes: характеристика микроорганизма, выделение, идентификация и определение чувствительности к антибактериальным препаратам. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2007; 2: 104 – 20.
15. Борисова О.Ю., Алешкин В.А., Пименова А.С., Крюков А.И., Кунельская Н.Л., Гуров А.В. и др. Микробный состав микрофлоры ротоглотки у больных с тонзиллярной патологией. *Инфекция и иммунитет.* 2015; 3: 225 – 32.
16. Гофман В.В., Дворянчиков В.В. Бактериологические и иммунологические показатели у больных хроническим тонзиллитом в современных условиях. *Российская оториноларингология.* 2013; 6: 34 – 8.
17. Мальцева Г.С., Янов Ю.К. Применение лабораторных методологий в этиологической диагностике хронического тонзиллита. *Российская оториноларингология.* 2007; 2: 46 – 55.
18. Сагандыкова Н.С. Особенности микрофлоры небных миндалин при хроническом воспалении. *Вестник КазНМУ.* 2015; 2: 105 – 7.
19. Салтанова Ж.Е. Хронический тонзиллит и его бактериальные возбудители. *Кремлевская медицина. Клинический вестник.* 2013; 2: 206 – 12.
25. Kriukov A.I., Izotova G.N., Zakharova A.F., Chumakov P.L., Kiseleva O.A. Relevance of the chronic tonsillitis problem. *Вестник оториноларингологии.* 2009; 5: 4 – 6.
26. Gudima I.A., Vasil'eva L.I., Bragina L.E., Suchkov I.I. Viral-bacterial-fungal associations in chronic tonsillitis in children. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2001; 5: 16 – 9.
29. Быкова В.П., Хафизова Ф.А., Калинин Д.В., Дайхес Н.А. Хромогенная in situ гибридизация в диагностике герпес – вирусной инфекции при хроническом тонзиллите. *Архив патологии.* 2012; 2: 19 – 22.
30. Дроздова М.В., Очиллов Р.Т., Тырнова Е.В., Артюшкин С.А. Нарушения в системе гемостаза при плановых операциях у детей с хронической патологией лимфоэпителиального глоточного кольца. *Российская оториноларингология.* 2013; 6: 39 – 44.
31. Ющук Н.Д., Крюков А.И., Туровский А.Б., Попова И.А., Савостикова М.В. Значение персистирующей вирусной инфекции семейств *Herpes viridae* и *Papilloma viridae* при хронических воспалительных заболеваниях глотки. *Вестник оториноларингологии.* 2017; 4: 25 – 8.
32. Невлева А.С. Роль бактериальной и грибковой флоры при хроническом тонзиллите. В кн.: *Новые технологии в оториноларингологии: Сб. тр. межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию профессора Н.В. Мишенькина.* Омск; 2016: 39.
33. Крюков А.И., Товмасыян А.С., Дабкина И.В., Сухина М.А., Жуховицкий В.Г. Роль микрофлоры в этиологии хронического тонзиллита. *Вестник оториноларингологии.* 2010; 3: 4 – 6.
34. Енин И.П., Батурин В.А., Щетинин Е.В., Карпов В.П., Енин И.В. Микрофлора небных миндалин при хроническом тонзиллите. *Вестник оториноларингологии.* 2013; 4: 21 – 2.
36. Нестерова А.А., Вермиенко В.В. Особенности лакунарного микробиома при хроническом тонзиллите у больных с гастроэзофагеальным рефлюксом. *Российская оториноларингология.* 2018; 1: 85 – 92.
37. Начаров П.В., Шкабарова Е.В., Косенко В.А. Сравнительная характеристика бактериальной флоры слизистой глотки и крипт небных миндалин у больных хроническими тонзиллитами. В кн.: *Материалы Российской научно-практической конференции с международным участием «Роль клинической микробиологии в профилактике внутрибольничных инфекций».* М.; 2004: 66.
39. Потапова П.Д. Микробный пейзаж небных миндалин у медицинских работников с хроническим тонзиллитом. *Российская оториноларингология.* 2015; S1: 113 – 6.
40. Туманов А.А. Микробный пейзаж небных миндалин при разных формах хронического тонзиллита. *Российская оториноларингология.* 2015; S1: 117 – 9.
42. Пальчун В.Т. Очаговая инфекция в оториноларингологии. *Вестник оториноларингологии.* 2016; 1: 4–7.
47. Гофман В.В., Плужников Н.Н. Современные представления об этиопатогенезе хронического тонзиллита. *Российская оториноларингология.* 2014; 3: 34 – 9.
49. Терскова Н.В. *Клинико–иммунологические и молекулярно–генетические предикторы хронического аденоидита у детей:* Дисс. на соискание ученой степени д–ра мед. наук. Красноярск; 2016.

References

1. Arefieva N.A. Tonsillary pathology. The current state of the problem. *Vestnik otorinolaringologii.* 2012; 6: 10 – 3. (in Russian)
2. Karpishchenko S.A., Lavrenova G.V., Baranskaya S.V. Tonsillitis and tonsillogenic diseases. *Vestnik otorinolaringologii.* 2016; 4: 69 – 71. (in Russian)
3. Palchun V.T., Gurov A.V., Guseva O.A. Pathogenetic features of chronic tonsillary pathology. *Vestnik otorinolaringologii.* 2018; 2: 30 – 3. (in Russian)
4. Dergachev V.S., Dergacheva T.I. On the classification of chronic tonsillitis. *Rossiyskaya otorinolaringologiya.* 2009; 3: 4 – 8. (in Russian)
5. Brandtzaeg P. Function of mucosa-associated lymphoid tissue in antibody formation. *Immunological Investigations.* 2010; 4-5: 303 – 55.
6. Brandtzaeg P. Immune functions of nasopharyngeal lymphoid tissue. *Advances in Oto-Rhino-Laryngology.* 2011; 72: 20 – 4.

7. Vlasova T.M., Bojko N.V. An increase in the number of post-streptococcal complications in patients with chronic tonsillitis. *Rossiyskaya otorinolaringologiya*. 2015; S1: 45 – 7. (in Russian)
8. Kosyakov S.Ya., Angotoeva I.B., Muldasheva A.A. Diagnosis and treatment of a simple form of chronic tonsillitis in patients with laryngopharyngeal reflux. *Rossiyskaya otorinolaringologiya*. 2016; 1: 42 – 7. (in Russian)
9. Rybak N.A., Tsyrunov V.M., Rybak R.F. Microbiocenosis of the tonsils with chronic tonsillitis. *Zdravookhraneniye (Minsk)*. 2014; 12: 2 – 7. (in Russian)
10. el-Fakahany A.F., Abdalla K.F., Younis M.S., Hassan O.A., el-Shantoury M. Tonsillar toxoplasmosis. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*. 1992; 2: 375 – 80.
11. Maltseva G.S. Streptococcal infection in chronic tonsillitis. *Consilium Medicum*. 2009; 3: 71 – 7. (in Russian)
12. Bassili A., Barakat S., Sawaf G.E., Zaher S., Zaki A., Din Saleh E.E. Identification of clinical criteria for group A-beta hemolytic streptococcal pharyngitis in children living in a rheumatic fever endemic area. *Journal of Tropical Pediatrics*. 2002; 5: 285 – 93.
13. Shpynev K.V., Krechikova O.I., Krechikov V.A., Kozlov R.S. Streptococcus pyogenes: microorganism characterization, isolation, identification and determination of sensitivity to antibacterial drugs. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2007; 2: 104 – 20. (in Russian)
14. Oliver J., Malliya Wadu E., Piere N., Moreland N.J., Williamson D.A., Baker M.G. Group A Streptococcus pharyngitis and pharyngeal carriage: A meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2018; 3:e0006335.
15. Borisova O.Yu., Aleshkin V.A., Pimenova A.S., Kryukov A.I., Kunelskaya N.L., Gurov A.V. et al. Microbial composition of the oropharyngeal microflora in patients with tonsillar pathology. *Infektsiya i immunitet*. 2015; 3: 225 – 32. (in Russian)
16. Gofman V.V., Dvoryanchikov V.V. Bacteriological and immunological parameters in patients with chronic tonsillitis in modern conditions. *Rossiyskaya otorinolaringologiya*. 2013; 6: 34 – 8. (in Russian)
17. Maltseva G.S., Yanov Yu.K. The use of laboratory methodologies in the etiological diagnosis of chronic tonsillitis. *Rossiyskaya otorinolaringologiya*. 2007; 2: 46–55. (in Russian)
18. Sagandykova N.S. Features of the microflora of the tonsils with chronic inflammation. *Vestnik Kazahskogo natsional'nogo meditsinskogo universiteta*. 2015; 2: 105 – 7. (in Russian)
19. Saltanova Z.E. Chronic tonsillitis and its bacterial pathogens. *Kremlevskaya meditsina. Klinicheskiy vestnik*. 2013; 2: 206 – 12. (in Russian)
20. Tuscherr L., Löffler B. Staphylococcus aureus dynamically adapts global regulators and virulence factor expression in the course from acute to chronic infection. *Current Genetics*. 2016; 1: 15 – 7.
21. Hwang M.S., Forman S.N., Kanter J.A., Friedman M. Tonsillar Helicobacter pylori colonization in chronic tonsillitis: systematic review and meta-analysis. *JAMA Otolaryngology–Journal of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 2015; 3: 245 – 9.
22. Siupsinskiene N., Katutiene I., Jonikiene V., Janciauskas D., Vaitkus S. Helicobacter pylori in the tonsillar tissue: a possible association with chronic tonsillitis and laryngopharyngeal reflux. *The Journal of Laryngology & Otology*. 2017; 6: 549 – 56.
23. Li'e C., Juan C., Dongying J., Guiling F., Tihua Z., Yanfei W. The role of environmental tobacco exposure and Helicobacter pylori infection in the risk of chronic tonsillitis in children. *Sao Paulo Medical Journal*. 2017; 1: 29 – 33.
24. Piacentini G.L., Peroni D.G., Blasi F., Pescolliderung L., Goller P., Gallmetzer L., et al. Atypical bacteria in adenoids and tonsils of children requiring adenotonsillectomy. *Acta Oto-Laryngologica*. 2010; 5: 620 – 5.
25. Kriukov A.I., Izotova G.N., Zakharova A.F., Chumakov P.L., Kiseleva O.A. Relevance of the chronic tonsillitis problem. *Vestnik otorinolaringologii*. 2009; 5: 4 – 6. (in Russian)
26. Gudima I.A., Vasil'eva L.I., Bragina L.E., Suchkov I.I. Viral-bacterial-fungal associations in chronic tonsillitis in children. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2001; 5: 16 – 9.
27. Aleszczyk J. Connection between changing the vitamin and immune status and the character of the throat microflora in patients with chronic tonsillitis. *Polish Journal of Otolaryngology*. 2003; 2: 221 – 4.
28. Dogan B., Rota S., Gurbuzler L., Bozdayi G., Ceyhan M.N., Inal E. The correlation between EBV viral load in the palatine tonsils of patients with recurrent tonsillitis and concurrent serum titers of VCA – IgG. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2010; 1: 143 – 8.
29. Bykova V.P., Hafizova F.A., Kalinin D.V., Daikhes N.A. Chromogenic in situ hybridization in the diagnosis of herpes viral infection in chronic tonsillitis. *Arkhiv patologii*. 2012; 2: 19 – 22. (in Russian)
30. Drozdova M.V., Ochilov R.T., Tyrnova E.V., Artyushkin S.A. Disorders in the hemostatic system during planned operations in children with chronic pathology of the lymphoepithelial pharyngeal ring. *Rossiyskaya otorinolaringologiya*. 2013; 6: 39–44. (in Russian)
31. Yushchuk N.D., Kryukov A.I., Turovsky A.B., Popova I.A., Savostikova M.V. The value of a persistent viral infection of the families of Herpes viridae and Papilloma viridae in chronic inflammatory diseases of the pharynx. *Vestnik otorinolaringologii*. 2017; 4: 25 – 8. (in Russian)
32. Nevleva A.S. The role of bacterial and fungal flora in chronic tonsillitis. In: *New technologies in otorhinolaryngology: Proceedings of the Interregional Scientific and Practical Conference with international participation, dedicated to the 90th anniversary of Professor N.V. Mishenkin*. [V kn.: *Novye tekhnologii v otorinolaringologii: Sbornik trudov mezhdunarodnykh uchastiem, posvyashchennykh 90-letiyu professora N.V. Mishen'kina*]. Omsk 2016: 39. (in Russian)
33. Kryukov A.I., Tovmasyan A.S., Drabkina I.V., Sukhina M.A., Zhukhovitsky V.G. The role of microflora in the etiology of chronic tonsillitis. *Vestnik otorinolaringologii*. 2010; 3: 4 – 6. (in Russian)
34. Enin I.P., Baturin V.A., Shchetin E.V., Karpov V.P., Enin I.V. Microflora of the tonsils with chronic tonsillitis. *Vestnik otorinolaringologii*. 2013; 4: 21 – 2. (in Russian)
35. Jensen A., Fagö-Olsen H., Sørensen C.H., Kilian M. Molecular mapping to species level of the tonsillar crypt microbiota associated with health and recurrent tonsillitis. *PLoS One*. 2013; 2: e56418.
36. Nesterova A.A., Vermienko V.V. Features of the lacunar microbiome in chronic tonsillitis in patients with gastroesophageal reflux. *Rossiyskaya otorinolaringologiya*. 2018; 1: 85 – 92. (in Russian)
37. Nacharov P.V., Shkabarova E.V., Kosenko V.A. *Comparative characteristics of the bacterial flora of the pharyngeal mucosa and crypt of the tonsils in patients with chronic tonsillitis*. In: *The role of clinical microbiology in the prevention of nosocomial infections: Proceedings of the Russian scientific-practical conference with international participation*. [Svravnitel'naya kharakteristika bakterial'noy flory slizistoy glotki i kript nebykh mindalin u bol'nykh khronicheskimi tonzillitami]. Moscow; 2004: 66. (in Russian)

38. Haq S.N., Ayub Z., Ahmed A. Tonsillar surface micro flora: does it truly represent pathological tonsillar flora? *Journal of College of Physicians and Surgeons Pakistan*. 2017; 1: 23 – 5.
39. Potapova P.D. Microbial landscape of the tonsils in health care workers with chronic tonsillitis. *Rossiyskaya otorinolaringologiya*. 2015; S1: 113 – 6. (in Russian)
40. Tumanov A.A. Microbial landscape of the tonsils with various forms of chronic tonsillitis. *Rossiyskaya otorinolaringologiya*. 2015; S1: 117 – 9. (in Russian)
41. Hang J., Zavaljevski N., Yang Y., Desai V., Ruck R.C., Macareo L.R. et al. Composition and variation of respiratory microbiota in healthy military personnel. *PLoS One*. 2017; 12: e0188461.
42. Palchun V.T. Focal infection in otorhinolaryngology. *Vestnik otorinolaringologii*. 2016; 1: 4 – 7. (in Russian)
43. Okumura R., Takeda K. Maintenance of intestinal homeostasis by mucosal barriers. *Inflammation and Regeneration*. 2018; 38: 5.
44. Schenck L.P., Surette M.G., Bowdish D.M. Composition and immunological significance of the upper respiratory tract microbiota. *FEBS Letters*. 2016; 21: 3705 – 20.
45. Yun Y., Srinivas G., Kuenzel S., Linnenbrink M., Alnahas S., Bruce K.D., et al. Environmentally determined differences in the murine lung microbiota and their relation to alveolar architecture. *PLoS One*. 2014; 9: e113466.
46. Salter S.J., Turner C., Watthanaworawit W., de Goffau M.C., Wagner J., Parkhill J. et al. A longitudinal study of the infant nasopharyngeal microbiota: The effects of age, illness and antibiotic use in a cohort of South East Asian children. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2017; 10: e0005975.
47. Gofman V.V., Pluzhnikov N.N. Modern ideas about the etio-pathogenesis of chronic tonsillitis. *Rossiyskaya otorinolaringologiya*. 2014; 3: 34 – 9. (in Russian)
48. Santee C.A., Nagalingam N.A., Faruqi A.A., DeMuri G.P., Gern J.E., Wald E.R. et al. Nasopharyngeal microbiota composition of children is related to the frequency of upper respiratory infection and acute sinusitis. *Microbiome*. 2016; 4: 34.
49. Terskova N.V. *Clinical and immunological and molecular genetic predictors of chronic adenoiditis in children: diss. [Kliniko–immunologicheskie i molekulyarno–geneticheskie prediktory khronicheskogo adenoidita u detey; Diss. na soiskanie uchenoy stepeni d–ra med. Nauk]*. Krasnoyarsk; 2016. (in Russian)
50. Spellberg B., Edwards J.E. Type 1/type 2 immunity in infectious diseases. *Clinical Infectious Diseases*. 2001; 32: 76–102.

Сведения об авторах:

Начаров Петр Васильевич, доктор мед. наук, ст. науч. сотр., зав. лабораторно-диагностическим отделом, e-mail: nacharov@bk.ru;

Копилев Олег Иванович, доктор мед. наук, проф., зам. директора по клинической работе, e-mail: oikonoplev@mail.ru;

Преображенская Юлия Сергеевна, канд. мед. наук, науч. сотр. отдела диагностики и лечения нарушений слуха, e-mail: preobrazhenskayays@yandex.ru;

Дроздова Марина Владимировна, доктор мед. наук, вед. науч. сотр. отдела разработки и внедрения высокотехнологичных методов лечения, e-mail: drozdova1504@yandex.ru;

Захарова Галина Порфирьевна, доктор мед. наук, вед. науч. сотр. отдела разработки и внедрения высокотехнологичных методов лечения, e-mail: ZAHAROVA@lornii.ru

Методика

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616.613-003.7-092.4

Жариков А.Ю., Кальницкий А.С., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Бобров И.П., Жарикова Г.В.

Экспериментальная модель острого уратно-оксалатного нефролитиаза на крысах Wistar

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, 656038, Барнаул, Россия, пр. Ленина, д. 40

Введение. В последнее время возросла частота регистрации случаев уратно-оксалатного нефролитиаза. Для разработки новых методов фармакологической коррекции и оценки эффективности фармакотерапии необходимо создание адекватной модели заболевания.

Цель исследования – моделирование смешанного уратно-оксалатного нефролитиаза на крысах Wistar и изучение биохимической и гистологической картины патологии.

Методика. Эксперимент выполнен на 30 самцах крыс Wistar, разделенных на группу сравнения ($n=10$) и экспериментальную группу ($n=20$). Животным экспериментальной группы ежедневно на протяжении 7 сут внутрижелудочно через зонд вводили смесь оксониевой и мочевого кислот в дозах 500 и 1000 мг/кг соответственно и предоставляли в качестве питья 1% раствор этиленгликоля. В моче крыс обеих групп измеряли активность лактатдегидрогеназы и γ -глутамилтрансферазы, в гомогенате почек – концентрацию тиобарбитуратреактивных продуктов, общую прооксидантную и антиоксидантную активность, активность глутатионпероксидазы, каталазы, супероксиддисмутазы. Наличие конкрементов в почках и наличие воспалительной реакции оценивали по результатам морфологического исследования.

Результаты. В моче крыс экспериментальной группы к 7-м сут эксперимента активность лактатдегидрогеназы возросла более чем в 20 раз относительно исходного уровня, в группе сравнения не происходило статистически значимых изменений активности лактатдегидрогеназы по сравнению с исходным уровнем. Концентрация тиобарбитуратреактивных продуктов и активность каталазы в гомогенате почек крыс экспериментальной группы на 7-е сут исследования были в 1,3 и 1,6 раза соответственно выше аналогичных показателей группы сравнения, а общая прооксидантная и общая антиоксидантная активность, а также активность супероксиддисмутазы в гомогенате почек крыс подопытной группы статистически значимо снизились в 3,1, 1,8 и 3,2 раза соответственно относительно уровня группы сравнения. В группе сравнения почечные конкременты отсутствовали, а в экспериментальной были выявлены в 100% случаев в количестве $20,2 \pm 2,35$ со средней площадью $540,55 \pm 47,7$ мкм² с признаками сопутствующих воспалительных и дистрофических процессов.

Заключение. При недельном применении 1% раствора этиленгликоля и смеси оксониевой и мочевого кислот в дозах 500 и 1000 мг/кг соответственно формируется уратно-оксалатный нефролитиаз, характеризующийся повышением активности лактатдегидрогеназы в моче, активацией окислительных процессов и образованием смешанных депозитов с наличием выраженной воспалительной инфильтрации, кистозного расширения почечных канальцев, а также дистрофических изменений канальцевого эпителия.

Ключевые слова: уратно-оксалатный нефролитиаз; моделирование

Для цитирования: Жариков А.Ю., Кальницкий А.С., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Бобров И.П., Жарикова Г.В. Экспериментальная модель острого уратно-оксалатного нефролитиаза на крысах Wistar. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(3): 98-106.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.98-106

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Жариков А.Ю.; сбор материала – Кальницкий А.С., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Жарикова Г.В.; анализ и интерпретация данных – все соавторы, статистическая обработка данных – Жариков А.Ю., Кальницкий А.С., Бобров И.П.; подготовка иллюстративного материала – Бобров И.П.; написание текста – Жариков А.Ю., Кальницкий А.С., Бобров И.П., редактирование текста – Жариков А.Ю. Обсуждение окончательной версии статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Кальницкий Артем Сергеевич, e-mail: artem_kalnitsky@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 30.04.2021

Принята к печати 30.06.2021

Опубликована 30.09.2021

Zharikov A.Yu., Kalnitsky A.S., Mazko O.N., Makarova O.G., Bobrov I.P., Zharikova G.V.

Experimental model of acute urate oxalate nephrolithiasis in Wistar rats

Altai State Medical University,
Lenina Prospekt 40, Barnaul 656038, Russian Federation

Introduction. At present, the incidence of urate-oxalate nephrolithiasis has increased. For the development of new methods of pharmacological treatment of this disease, it is necessary to create an adequate model that makes it possible to assess the effectiveness of pharmacotherapy.

The aim – create a model of mixed urate-oxalate nephrolithiasis in Wistar rats and to study the biochemical and histological picture of the pathology.

Methods. Experiments were carried out on 30 male Wistar rats, divided into a comparison group ($n = 10$) and an experimental group ($n = 20$). For formation of urate-oxalate nephrolithiasis, the experimental group was injected daily for 7 days intragastrically a mixture of oxonic and uric acids at doses of 500 and 1000 mg/kg, respectively, and these rats were also provided a drinking 1% solution of ethylene glycol. The activities of lactate dehydrogenase and γ -glutamyl transferase were measured in the urine of both groups. In the kidney homogenate, the concentration of thiobarbiturate-reactive products, total pro-oxidant and antioxidant activity, and activities of glutathione peroxidase, catalase, and superoxide dismutase were measured. Severity of lithogenesis, and inflammation was assessed based on the results of morphological studies.

Results. In the urine of rats of the experimental group, the activity of lactate dehydrogenase increased more than 20 times relative to the initial level. In the comparison group, there were no significant biochemical changes. The concentration of thiobarbiturate-reactive substances and the activity of catalase in the kidney homogenate experimental group on the 7th day the were 1.3 and 1.6 times higher, respectively, than those of the comparison group. The total pro-oxidant and total antioxidant activity, as well as the activity of superoxide dismutase, decreased significantly by 3.1, 1.8 and 3.2 times, respectively. In the comparison group, renal calculi were absent, but in the experimental group, they were found in 100% of cases in the number of 20.2 ± 2.4 with an average area of $140.55 \pm 47.7 \mu\text{m}^2$, accompanied by inflammatory and degenerative processes.

Conclusion. With a weekly application of a 1% solution of ethylene glycol and a mixture of oxonic and uric acids at doses of 500 and 1000 mg/kg, respectively, a pronounced urate-oxalate nephrolithiasis is formed. This was characterized by an increase in the activity of lactate dehydrogenase in the urine, activation of oxidative processes, and the formation of mixed deposits associated with pronounced inflammatory infiltration, cystic dilatation of the renal tubules, as well as dystrophic changes in the tubular epithelium.

Keywords: urate-oxalate nephrolithiasis; modeling

For citation: Zharikov A.Yu., Kalnitsky A.S., Mazko O.N., Makarova O.G., Bobrov I.P., Zharikova G.V. Experimental model of acute urate oxalate nephrolithiasis in Wistar rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(3): 98-106. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.98-106

Contribution: research concept and design – Zharikov A.Yu.; material collecting – Kalnitsky A.S., Mazko O.N., Makarova O.G., Zharikova G.V.; data analysis and interpretation – all co-authors; statistical data processing – Zharikov A.Yu., Kalnitsky A.S., Bobrov I.P.; illustrative material – Bobrov I.P.; writing text – Zharikov A.Yu., Kalnitsky A.S., Bobrov I.P.; text editing – Zharikov A.Yu. Approval of the final version of the article – all co-authors.

For correspondence: *Kalnitsky Artem Sergeevich*, postgraduate student of the Department of Pharmacology, e-mail: artem_kalnitsky@mail.ru

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

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

Information about the authors:

Zharikov A.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-4884-220X>

Kalnitsky A.S., <https://orcid.org/0000-0003-3500-3052>

Mazko O.N., <https://orcid.org/0000-0001-7299-4516>

Makarova O.G., <https://orcid.org/0000-0001-7771-9468>

Bobrov I.P., <https://orcid.org/0000-0001-9097-6733>

Zharikova G.V., <https://orcid.org/0000-0002-3227-2348>

Received: 30.04.2021

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

Введение

По современным данным, частота заболеваемости различными формами мочекаменной болезни (МКБ) составляет до 1/20 от общей заболеваемости внутренними болезнями человека [1]. Как известно, основными нозологическими формами МКБ являются оксалатный и уратный нефролитиаз [2]. При этом все чаще выявляется смешанный характер течения МКБ по типу уратно-оксалатного нефролитиаза (УОН), что признается специалистами одной из серьезных проблем современной урологии [3]. По данным современных исследований, существует ряд патофизиологических особенностей, способствующих формированию УОН, таких как пересыщение мочи оксалатом кальция и мочевой кислотой при погрешностях в питании [4], а также наличие сопутствующих метаболических заболеваний [5].

Смешанный УОН крайне трудно поддается медикаментозной терапии. На данный момент для фармакологической коррекции УОН может применяться так называемая «цитратная терапия», которая имеет ряд существенных недостатков [6-8]. В этой связи сохраняется высокая актуальность поиска новых фармакологических подходов к коррекции УОН.

Разработка и доклинические испытания новых методов фармакологической коррекции УОН предполагают наличие адекватной экспериментальной модели заболевания, на создание которой направлено настоящее исследование. В основу гипотезы исследования положена применимость разрабатываемой модели УОН для последующего изучения новых фармакологических подходов к лечению данного заболевания у человека. Ранее нами был проведен критический анализ литературных данных о существующих экспериментальных моделях оксалатного и уратного нефролитиаза с целью выбора модели, которая воспроизводит картину нефролитиаза наиболее адекватно течению заболевания у человека [9, 10]. По нашему мнению, такими моделями являются: для оксалатного нефролитиаза – этиленгликолевая модель, для уратного нефролитиаза – модель ингибирования уриказы у крыс путем совместного длительного введения мочевой и оксониевой кислот. Данные модели нами были воспроизведены в эксперименте, в котором было по биохимическим и гистологическим признакам подтверждено, что оксалатный и уратный нефролитиаз, развивающийся в имевших место условиях эксперимента, адекватно отражают картину течения заболевания у человека [11, 12]. Мы решили проверить возможность моде-

лирования смешанного УОН путем совместного использования этиленгликолевой модели оксалатного нефролитиаза и модели ингибирования уриказы уратного нефролитиаза.

Цель исследования – моделирование смешанного уратно-оксалатного нефролитиаза на крысах Wistar и изучение биохимической и гистологической картины патологии.

Методика

Экспериментальное исследование проведено на 30 самцах крыс Wistar массой 250–330 г, содержащихся в индивидуальных метаболических клетках, приспособленных для сбора мочи. Питание животных осуществлялось в соответствии со стандартным лабораторным рационом. Работа с животными осуществлялась в соответствии с Правилами надлежащей лабораторной практики (GLP) (Приказ Министерства здравоохранения РФ от 01.04.2016г. №-199н), а также с требованиями Директивы 2010/63/EU по охране животных, используемых в научных целях, от 22.09.2010 г. Работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет».

Животные были рандомизированы на 2 группы: экспериментальная (подопытные животные) группа – моделирование УОН (20 особей), и группа сравнения – 10 интактных крыс. Для моделирования в экспериментальной группе УОН была предложена комбинированная методика, основанная на совместном применении веществ, используемых в разработанных ранее способах моделирования уратного и оксалатного нефролитиаза, и включающая в себя предоставление крысам в качестве питья 1% раствора этиленгликоля [9], а также ежедневное внутрижелудочное (через зонд) введение смеси оксониевой кислоты (500 мг/кг) и мочевой кислоты (1000 мг/кг) [10]. Количество потребляемого крысами этиленгликоля было свободным, т.к. в проведенных ранее исследованиях мы, во-первых, установили, что в таких условиях доза этиленгликоля, попавшего в организм, достаточна, чтобы вызвать гипероксалурию и последующее за этим формирование кальций-оксалатных конкрементов, а, во-вторых, искусственное регулирование объема потребляемого раствора этиленгликоля может существенно изменять характер развития нефролитиаза [11, 13]. Длительность моделирования оксалатного и уратного нефролитиаза в наших предыдущих экспериментах составляла 3 нед. В то же время, было показано, что нефролитиаз начинает развиваться уже после 1-й нед эксперимента [11, 12]. Учитывая это, а также предполагая, что совместное

применение этиленгликоля и оксониевой кислоты и мочевиной кислоты усилит токсическое действие на почки и организм крыс в целом, в настоящем исследовании была выбрана продолжительность эксперимента – 7 сут.

За сутки до начала моделирования УОН, а затем на 5-е и 7-е сут исследования производился сбор суточной мочи крыс в обеих группах. В моче определяли активность маркерных ферментов, указывающих на степень нарушения функции почек: активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и γ -глутамилтрансферазы (ГГТ). Для исключения загрязнения мочи лабораторных животных твердыми отходами, крыс помещали в двухсекционные клетки, снабженные решетчатым дном, а также отделителем. Измерение показателей осуществлялось при помощи лабораторного биохимического анализатора CS-T240 (Dirui Industrial Co., Ltd., Китай) с использованием наборов реагентов фирмы АО «Диакон-ДС», Россия. Методика определения активности ЛДГ с использованием данных реактивов подразумевает определение всех изоформ ЛДГ, включая изоформы 1 и 2, являющиеся маркерами повреждения почек.

По завершении исследования крысы были подвергнуты эвтаназии с использованием диэтилового эфира в качестве наркозного средства, после чего проводилось изъятие обеих почек, одна из которых использовалась для оценки уровня активности процессов свободнорадикального окисления (СРО), другая – для морфологического исследования патогистологических признаков развития нефролитиаза.

Определение уровня активности процессов СРО проводилось согласно общепринятым методикам [14]. В качестве показателей прооксидантного статуса почечной ткани были выбраны общая прооксидантная активность (ОПА) и концентрация тиобарбитуратреактивных продуктов (ТБРП, мкмоль/мг). Для оценки выраженности антиоксидантной защиты определяли активность (в %) таких ферментов, как каталаза (КАТ), супероксиддисмутаза (СОД) и глутатионпероксидаза (ГПО), а также уровень общей антиоксидантной активности (ОАА). Концентрация ТБРП определялась методом фотоэлектроколориметрии по интенсивности окраски раствора после протекания химической реакции ТБРП с 2-тио-4,6-пиримидиндионом. Общую прооксидантную активность оценивали в соответствии с зафиксированным уровнем окраски флуоресцентного комплекса, полученного путем взаимодействия тиобарбитуровой кислоты с продуктами реакции твина-80 с пероксидными радикалами. Общую антиоксидантную активность измеряли с помощью фикса-

ции уровня ингибирования Fe^{2+} /аскорбат-зависимого окисления твина-80 исследуемым субстратом. Активность КАТ определялась по степени подавления окисления пероксидом водорода натриевой соли молибденовой кислоты. Активность СОД оценивалась путем определения концентрации нитроформазана, который является продуктом взаимодействия супероксидных радикалов с нитротетразолием синим. Активность ГПО измерялась с помощью реакции взаимодействия восстановленного глутатиона с дитионитробензойной кислотой.

Для осуществления морфологических исследований выполнялась проводка исследуемых образцов почечной ткани с использованием аппарата TISSUE-TEK VIPTM6 (Sakura, Япония), с дальнейшим изготовлением срезов толщиной 5 мкм на микротоме Accu-Cut SRM (Sakura, Япония). Готовые срезы окрашивались с использованием нитрата серебра по Косса и микроскопировались под увеличением $\times 400$ (микроскоп Nikon Eclipse E200, Китай). Определяли площадь конкрементов в почечной ткани и их количество, оценивали патогистологические признаки повреждения почек, характерные для мест формирования конкрементов при уратном и/или оксалатном нефролитиазе в почках, состояние эпителия почечных канальцев, наличие признаков воспаления, степень полнокровия сосудов.

Статистическая обработка экспериментальных данных производилась с использованием пакета программ Statistica 12.0 для Windows. Проводилась проверка распределения экспериментальных данных на нормальность при помощи критерия Шапиро–Уилка. Ввиду того, что экспериментальные данные, полученные в ходе биохимических исследований, имели распределение, отличное от нормального, различия между исходными показателями и полученными в процессе проведения эксперимента оценивались при помощи критерия Вилкоксона, а межгрупповые различия – с использованием критерия Манна–Уитни. Результаты исследований представлены медианой, 25 и 75 перцентилями (Me (Q25%; Q75%)). Распределение данных морфометрических исследований представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$). Различия признавались статистически значимыми при значении $p < 0,05$ [15].

Результаты

Проведенные эксперименты показали, что активность ЛДГ в моче подопытных крыс на 5-е и 7-е сут эксперимента статистически значимо превышала исходный уровень в 29 и 21 раз соответственно. Активность ГГТ статистически значимо не изменялась

(табл. 1). Активность ЛДГ и ГГТ у интактных крыс на протяжении всего эксперимента была стабильной и не отличалась от исходного уровня (в таблице не представлено).

Изучение активности процессов СРО в гомогенате почек показало, что концентрация ТБРП у животных экспериментальной группы была статистически значимо выше аналогичного показателя группы сравнения в 1,3 раза, в то время как ОПА и ОАА в почках подопытных животных были статистически значимо ниже в 3,1 и 1,8 раза соответственно. При этом активность КАТ в экспериментальной группе была в 1,6 раза выше, чем у интактных животных, а СОД – ниже в 3,2 раза. Активность ГПО не имела статистически значимых межгрупповых различий (табл. 2).

Морфологические исследования показали, что в почках подопытных крыс наблюдались ярко выраженные признаки развития нефролитиаза и формирования уратно-оксалатных конкрементов, которые были выявлены в 100% случаев. Микролиты различных размеров и формы, преимущественно светло-фиоле-

тового или светло-желтого цвета отмечались в корковом, мозговом слоях и сосочке почки. При гистохимической окраске по Коссу депозиты камней окрашивались в черный цвет (рисунок). Они обнаруживались в большом числе кистозно расширенных канальцев. Эпителий таких канальцев находился в состоянии белковой дистрофии, выглядел уплощенным, ядра клеток были уменьшены в размере или имели признаки пикноза. В строме и просвете канальцев отмечались признаки воспаления, воспалительный инфильтрат состоял из лимфоцитов, плазматических клеток, макрофагов и нейтрофилов. Сосуды были полнокровны. Среднее количество депозитов, пределы колебаний их числа, средняя площадь депозитов и пределы колебаний площади депозитов представлены в таблице 3.

Обсуждение

Как известно, процесс образования почечных камней начинается с формирования первичного очага литогенеза – участка эпителия почечных канальцев, где

Таблица 1/Table 1

Показатели активности ЛДГ и ГГТ в моче крыс экспериментальной группы

Activities of urinary LDH and GGT in the experimental group

Этапы эксперимента	ЛДГ (U / мг креатинина в сутки)	ГГТ (U / мг креатинина в сутки)
Исходный уровень	0,01 (0,004;0,03)	0,18 (0,13;0,24)
5-е сут	0,29 (0,14;0,54) <i>p</i> <0,001	0,20 (0,13;0,28)
7-е сут	0,21 (0,16; 0,34) <i>p</i> =0,003	0,10 (0,06;0,12)

Примечание. *p* – уровень статистической значимости изменения показателя относительно исходного уровня.

Note. *p* is the level of statistical significance of the change in the indicator relative to the initial level.

Таблица 2/Table 2

Показатели свободнорадикального окисления в гомогенате почек крыс группы сравнения и экспериментальной группы

Activities of free-radical processes in kidney homogenates of experimental rats

Группы животных	ТБРП, (мкмоль/мг)	ОПА, %	ОАА, %	ГПО, %	КАТ, %	СОД, %
Группа сравнения (Интактные крысы)	6,1 (5,4;6,9)	65,1 (63,4;68,0)	41,7 (40,2;43,3)	38,5 (25,2;41,6)	14,4 (10,2;15,6)	18,2 (13,0;18,5)
Экспериментальная группа (подопытные крысы)	7,9 (7,7;8,1) <i>p</i> <0,001	21,1 (13,3;28,3) <i>p</i> <0,001	22,8 (19,8;27,5) <i>p</i> <0,001	34,5 (32,5;37,5)	22,5 (19,2;34,1) <i>p</i> <0,001	5,8 (3,1;6,8) <i>p</i> <0,001

Примечание. *p* – уровень статистической значимости межгрупповых различий показателей.

Note. *p* is the level of statistical significance of intergroup differences in indicators.

происходит повреждение или гибель нефроцитов [16]. Оценить развитие такого повреждения биохимическими методами возможно, измеряя активность ЛДГ – цитозольного фермента, повышение активности которого в моче может происходить только в результате цитолиза нефроцитов [17]. В ходе проведенного эксперимента был зафиксирован почти 30-кратный рост активности ЛДГ в моче крыс экспериментальной группы относительно исходного уровня. Это свидетельствовало о повреждении почечных тканей, а значит, о формировании условий для образования конкрементов в почках. При этом следует отметить, что в предыдущих наших работах, где осуществлялось моделирование отдельно оксалатного и отдельно уратного нефролитиаза, к исходу 1-й нед эксперимента также наблюдался рост ак-

тивности ЛДГ, но он был значительно менее выражен: в 7,8 раза при моделировании оксалатного нефролитиаза и в 1,9 раза при моделировании уратного нефролитиаза [11, 12]. Это можно расценивать в качестве косвенного подтверждения, что при моделировании смешанного УОН происходит более существенное повреждение почек, чем при раздельном моделировании этих патологий.

Еще одним общепризнанным патогенетическим фактором, способствующим повреждению почечных тканей и формированию камней в почках, является образование токсичных активных форм кислорода, что влечет за собой перекисное повреждение мембранных липидов и ядерного аппарата и приводит к активации апоптоза и некрозу почечного эпителия [16, 18]. Экс-



Рис. Гистологическая картина почки крысы экспериментальной группы при моделировании уратно-оксалатного нефролитиаза. Окраска нитратом серебра по Косса. Ув. 100.

a – депозиты в кистозно расширенных почечных канальцах.

Fig. Histological picture of the kidney of the rat in the experimental group when modeling urate-oxalate nephrolithiasis. Cossa staining with silver nitrate. Magnification $\times 100$.

a – deposits in the cystic dilated renal tubules.

Таблица 3/ Table 3

Данные морфометрического исследования почек крыс экспериментальной группы

Data of morphometric studies of the kidneys of experimental rats

Количество депозитов в поле зрения	Пределы колебаний количества депозитов в поле зрения	Площадь депозитов, мкм ²	Пределы колебаний площади депозитов, мкм ²	Состав воспалительного инфильтрата
20,2 \pm 2,35	8–40	540,55 \pm 47,7	140,9–945,25	Лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги и нейтрофилы

периментальные свидетельства развития оксидативного стресса в почках крыс при моделировании как оксалатного, так и уратного нефролитиаза, были получены и нами в предыдущих исследованиях [19, 20].

В настоящем исследовании, изучив показатели СРО, мы установили, что через 7 сут моделирования УОН концентрация ТБРП в гомогенате почек подопытных крыс статистически значимо (в 1,3 раза) превышает значение данного показателя у интактных крыс. Как известно, ТБРП – маркер перекисного повреждения фосфолипидов клеточных мембран [21]. Полученные данные хорошо согласуются с современными представлениями о повреждении при нефролитиазе мембран нефроцитов свободными радикалами кислорода.

Кроме того, обращает на себя внимание статистически значимое снижение активности супероксиддисмутазы при сопутствующем увеличении активности каталазы в гомогенате почек крыс экспериментальной группы относительно группы сравнения. Вероятно, это можно объяснить тем, что произошло истощение активности супероксиддисмутазы в процессе нейтрализации образующегося супероксида, который является наиболее агрессивной активной формой кислорода [14, 22]. На следующем этапе ферментной антиоксидантной защиты клеток, как известно, участвует каталаза, превращающая пероксид водорода в гидроксильный радикал [14, 23, 24]. Поэтому, по всей видимости, увеличение активности каталазы на 7-е сут эксперимента объясняется находящимся в активной фазе процессе нейтрализации пероксида водорода в гидроксильный радикал.

Параллельно нами было зафиксировано статистически значимое снижение ОАА и ОПА в гомогенате почек крыс экспериментальной группы относительно животных группы сравнения. Снижение ОАА в контексте развития патологии выглядит вполне логичным и указывает на ослабление системы совокупной ферментной и неферментной антиоксидантной защиты нефроцитов. Факт снижения интегративного показателя оксидативного статуса в клетках и внеклеточных жидкостях, основываясь на имеющихся экспериментальных данных, объяснить довольно трудно. Можно предположить, что это, хотя бы отчасти, объясняется накапливающейся в крови и моче в процессе моделирования уратного компонента нефролитиаза мочевой кислотой, которая, как известно, обладает свойствами прямого антиоксиданта [20, 25]. Не исключено, что накопление мочевой кислоты вызвало нейтрализацию некоторых внеклеточных активных форм кислорода, определяющих величину ОПА, что и вызвало его снижение.

Результаты морфологических исследований подтвердили формирование многочисленных почечных конкрементов.

Однако, разумеется, подобные предположения нуждаются в дополнительных экспериментальных исследованиях. Анализируя полученные данные, отметим, что, во-первых, наиболее вероятно, эти конкременты имели смешанный химический состав, включая гидраты оксалата кальция и мочевую кислоту. На подтверждение данной гипотезы будут направлены дальнейшие эксперименты по изоляции конкрементов и определения их химического состава. Во-вторых, сравнивая полученные результаты с результатами наших предыдущих экспериментов, в которых моделировался отдельно оксалатный и отдельно уратный нефролитиаз, важно отметить, что размеры депозитов в случае моделирования смешанного УОН были значительно крупнее: в 54 раза относительно моделирования оксалатного нефролитиаза и в 33 раза относительно моделирования уратного нефролитиаза.

Таким образом, в проведенных экспериментах впервые показана возможность успешного моделирования смешанного уратно-оксалатного нефролитиаза.

Заключение

Моделирование смешанного уратно-оксалатного нефролитиаза у крыс путем применения 1% раствора этиленгликоля и смеси оксониевой и мочевой кислот в дозе 500 мг/кг и 1000 мг/кг соответственно сопровождается повреждением почечных тканей, о чем свидетельствует рост активности маркерного фермента лактатдегидрогеназы, развитием оксидативного стресса в почках, наиболее характерными признаками чего явились увеличение концентрации в почках ТБРП и снижение неферментной и ферментной антиоксидантной защиты нефроцитов, и формированием в почках многочисленных крупных конкрементов. На основе полученных результатов и дальнейших исследований в данном направлении будет разработана экспериментальная модель уратно-оксалатного нефролитиаза, применимая для оценки эффективности новых фармакологических подходов к лечению данного заболевания.

Литература

(п.п. 2-5; 17; 18; 21-23 см. References)

1. Ковылько Е.М., Лидохова О.В. Мочекаменная болезнь: анализ заболеваемости и механизм развития. *Молодежный инновационный вестник*. 2018; 7(1): 10-2.

6. Демидко Ю.Л., Руденко В.И. Применение блемарена при нефролитиазе. *Фарматека*. 2015; 3(296): 71-5.
7. Руденко В.И., Рапопорт Л.М., Кузьмичева Г.М. Современные аспекты цитратного литолиза. *Эффективная фармакотерапия*. 2017; 24: 10-5.
8. Аляев Ю.Г., Руденко В.И. Современные аспекты медикаментозного лечения пациентов с мочекаменной болезнью. *Эффективная фармакотерапия*. 2016; 5(41): 23-7.
9. Жариков А.Ю., Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В. Современные методы моделирования оксалатного нефролитиаза. *Нефрология*. 2008; 12(4): 28-35.
10. Перфильев В.Ю., Зверев Я.Ф., Жариков А.Ю., Условия развития уратного нефролитиаза и подходы к его моделированию. *Нефрология*. 2017; 21(4): 48-54.
11. Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В., Жариков А.Ю., Азарова О.В., Мотин Ю.Г. Функция почек в условиях экспериментального оксалатного нефролитиаза. *Нефрология*. 2008; 12(1): 69-74.
12. Перфильев В.Ю., Зверев Я.Ф., Брюханов В.М., Черданцева Т.М., Бобров И.П. Успешный опыт моделирования уратной нефропатии у крыс. *Нефрология*. 2016; 20(4): 93-7.
13. Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В., Жариков А.Ю., Кудинов А.В., Мотина Н.В. Влияние питьевых режимов на движущие силы кристаллизации при экспериментальном нефролитиазе. *Урология*. 2011; (1): 6-11
14. Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В., Жариков А.Ю., Талалаева О.С. *Методы доклинического (экспериментального) исследования влияния лекарственных средств на функцию почек*. Новосибирск; Гео; 2013.
15. Хафизьянова Р.Х., Бурыкин И.М., Алеева Г.Н. *Математическая статистика в экспериментальной и клинической фармакологии*. Казань; Медицина; 2006.
16. Жариков А.Ю., Зверев Я.Ф., Брюханов В.М., Лампатов В.В. Механизм формирования кристаллов при оксалатном нефролитиазе. *Нефрология*. 2009; 13(4): 37-50.
19. Зверев Я.Ф., Брюханов В.М., Талалаева О.С., Лампатов В.В., Жариков А.Ю., Талалаев С.В., и др. О роли процессов свободно-радикального окисления в развитии экспериментального нефролитиаза. *Нефрология*. 2008; 2(1): 58-63.
20. Перфильев В.Ю., Жариков А.Ю., Лукьяненко Д.Ю., Лысенко И.В. Активность свободнорадикального окисления в крови крыс на фоне экспериментальной уратной нефропатии. *Медицинский академический журнал*. 2016; 16(4): 188-9.
24. Луцкий М.А., Куксова Т.В., Смелянец М.А., Лушникова Ю.П. Свободнорадикальное окисление липидов и белков - универсальный процесс жизнедеятельности организма. *Успехи современного естествознания*. 2014; 12(1): 24-48.
25. Перфильев В.Ю., Зверев Я.Ф., Жариков А.Ю., Лукьяненко Д.Ю., Лысенко И.В., Атабаева О.Ш. Опыт применения пиоглитазона для профилактики и лечения экспериментального уратного нефролитиаза. *Нефрология*. 2017; 21(1): 52-6.
2. Spivacow F.R., Del Valle E.E., Lores E., Rey P.G. Kidney stones: Composition, frequency and relation to metabolic diagnosis. *Medicina (B Aires)*. 2016; 76(6): 343-8.
3. Tao B., Jeang E., Liu J. Clinical Epidemiology Investigation of Inpatients with Urolithiasis. *Journal of Kunming Medical University*. 2021; 42(3): 94-7.
4. Sutthimethakorn S., Thongboonkerd V. Effects of high-dose uric acid on cellular proteome, intracellular ATP, tissue repairing capability and calcium oxalate crystal-binding capability of renal tubular cells: Implications to hyperuricosuria-induced kidney stone disease. *Chemico-Biological Interactions*. 2020; 331: 109270.
5. Fernandez A., Fuller A., Al-Bareeq R., Nott L, Razvi H. A comparison of the metabolic profiles of diabetic and non-diabetic uric acid stone formers. *Canadian Urological Association Journal*. 2013; 7(3-4): 190-2.
6. Demidko Yu.L., Rudenko V.I. The use of blemaren for nephrolithiasis. *Farmateka*. 2015; 3(296): 71-5. (In Russian)
7. Rudenko V.I., Rapoport L.M., Kuzmicheva G.M. Modern aspects of citrate litholysis. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2017; 24: 10-5. (In Russian)
8. Alyaev Yu.G., Rudenko V.I. Modern aspects of drug treatment of patients with urolithiasis. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2016; 5(41): 23-7. (In Russian)
9. Zharikov A.Yu., Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F., Lampatov V.V. Modern methods of modeling oxalate nephrolithiasis. *Nefrologiya*. 2008; 12(4): 28-35. (In Russian)
10. Perfilov V.Yu., Zverev Y.F., Zharikov A.Yu. Conditions of urate nephrolithiasis and approaches to its modeling. *Nefrologiya*. 2017; 21(4): 48-54. (In Russian)
11. Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F., Lampatov V.V., Zharikov A.Yu., Azarova O.V., Motin Yu.G. Renal function in experimental oxalate nephrolithiasis. *Nefrologiya*. 2008; 12(1): 69-74. (In Russian)
12. Perfilov V.Yu., Zverev Ya.F., Bryukhanov V.M., Cherdantseva T.M., Bobrov I.P. Successful experience in modeling urate nephropathy in rats. *Nefrologiya*. 2016; 20(4): 93-7. (In Russian)
13. Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F., Lampatov V.V., Zharikov A.Yu., Kudinov A.V., Motina N.V. The influence of drinking regimes on the driving forces of crystallization in experimental nephrolithiasis. *Urologiya*. 2011; (1): 6-11. (In Russian)
14. Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F., Lampatov V.V., Zharikov A.Yu., Talalaeva O.S. Methods of preclinical (experimental) study of the effect of drugs on renal function. [*Metody doklinicheskogo (eksperimental'nogo) issledovaniya vliyaniya lekarstvennykh sredstv na funktsiyu pochek*]. Novosibirsk; Geo; 2013. (In Russian)
15. Khafizyanova R.Kh., Burikin I.M., Aleeva G.N. Mathematical statistics in experimental and clinical pharmacology. [*Matematicheskaya statistika v eksperimental'noy i klinicheskoy farmakologii*]. Kazan; Meditsina; 2006. (In Russian)
16. Zharikov A.Yu., Zverev Ya.F., Bryukhanov V.M., Lampatov V.V. The mechanism of crystal formation in oxalate nephrolithiasis. *Nefrologiya*. 2009; 13(4): 37-50. (In Russian)
17. Kabakov A.E., Gabai V.L. Cell Death and Survival Assays. *Methods in Molecular Biology*. 2018; 1709: 107-27.
18. Chaiyarit S., Thongboonkerd V. Mitochondrial Dysfunction and Kidney Stone Disease. *Frontiers in Physiology*. 2020; 11: 566506
19. Zverev Ya.F., Bryukhanov V.M., Talalaeva O.S., Lampatov V.V., Zharikov A.Yu., Talalae S.V., et al. On the role of free radical oxidation processes in the development of experimental nephrolithiasis. *Nefrologiya*. 2008; 2(1): 58-63. (In Russian)

References

1. Kovytko E.M., Lidokhova O.V. Urolithiasis: analysis of morbidity and mechanism of development. *Molodezhnyy innovatsionnyy vestnik*. 2018; 7(1): 10-2. (In Russian)

20. Perfilyev V.Yu., Zharikov A.Yu., Lukyanenko D.Yu., Lysenko I.V. The activity of free radical oxidation in the blood of rats against the background of experimental urate nephropathy. *Meditsinskiy akademicheskii zhurnal*. 2016; 16(4): 188-9. (In Russian)
21. Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry*. 2017; 524: 13-30.
22. Ratnam D.V., Ankola D.D., Bhardwaj V., Sahana D.K., Kumar M.N. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *The Journal of Controlled Release*. 2006; 113(3): 189-207.
23. Sepasi Tehrani H., Moosavi-Movahedi A.A. Catalase and its mysteries. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2018; 140: 5-12
24. Lutskiy M.A., Kuksova T.V., Smelyanets M.A., Lushnikova Yu.P. Free radical oxidation of lipids and proteins is a universal process of the body's vital activity. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2014; 12(1): 24-48. (In Russian)
25. Perfilyev V.Yu., Zverev Ya.F., Zharikov A.Yu., Lukyanenko D.Yu., Lysenko I.V., Atabaeva O.Sh. Experience of using pioglitazone for the prevention and treatment of experimental urate nephrolithiasis. *Nefrologiya*. 2017; 21(1): 52-6 (In Russian)

Сведения об авторах:

Жариков Александр Юрьевич, доктор биол. наук, доцент, и.о. проректора по научной работе и инновациям, зав. каф. фармакологии, e-mail: zharikov_a_y@mail.ru;

Кальницкий Артем Сергеевич, аспирант каф. фармакологии, e-mail: artem_kalnitsky@mail.ru;

Мазко Олеся Николаевна, канд. биол. наук, директор Института фармации АГМУ, доцент каф. фармакологии, e-mail: olesia.mazko@yandex.ru;

Макарова Олеся Геннадьевна, канд. фарм. наук, доцент каф. фармакологии, e-mail: olesia552@mail.ru;

Бобров Игорь Петрович, доктор мед. наук, проф. каф. судебной медицины им. проф. В.Н. Крюкова и патологической анатомии с курсом ДПО, e-mail: ig.bobrov2010@yandex.ru;

Жарикова Ганна Викторовна, канд. биол. наук, доцент каф. биологической химии, клин. лаб. диагностики, e-mail: ganna1704@mail.ru