

**Свидетельство о регистрации
СМИ: рег. № 1086 от
7.12.1990 г., зарегистрировано
Государственным Комитетом
СССР по печати.**

**В запись о регистрации СМИ
внесены изменения Федеральной
службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий
и массовых коммуникаций
рег. номер ПИ № ФС77-84858
от 21.03.2023 г.**

Адрес редакции:
125315, Москва, ул. Балтийская, 8.
ФГБНУ «НИИОПП», к. 379

E-mail: path.physiol@yandex.ru
Сайт: www.pfet.ru

Издатель:
ФГБНУ «НИИОПП»,
125315, Москва, ул. Балтийская, 8.
E-mail: piiopp@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 2023 г.: 0,560

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

Формат издания: 205×265 мм
Печать: цифровая
Тираж 100 экз.

Осуществляется также адресная
рассылка электронной версии журнала
профильным организациям в стране и за
рубежом

Выпускающий редактор
Н.Ю. Клишина
Редактор 1-й категории **Н.Р. Соболь**
Технический редактор **Е.М. Архипова**

Сдано в набор 19.09.2025
Подписано к печати 25.09.2025
Опубликовано 30.09.2025

Отпечатано: ООО «Мегаполис-Принт»
Адрес типографии:
125315, г. Москва, Ленинградский
проспект, д 78, корп.1

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.

© Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт
общей патологии и патофизиологии»,
2025.

ISSN 0031-2991

Пат. физиол. и экспер. тер.
2025. Том 69. № 3, 1-128.

ISSN 0031-2991



9 770031 299001

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»
Российское научное общество патофизиологов

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Ежеквартальный рецензируемый научно-практический журнал
Основан в 1957 г.

Том 69 № 3 • 2025

Июль–Сентябрь

Главный редактор:

А.М. Дыгай, акад. РАН, д.м.н., проф., ФГБНУ «НИИОПП», Москва

Заместители главного редактора:

Л.И. Колесникова, акад. РАН, д.м.н., проф., ФГБНУ «НЦПЗСРЧ», Иркутск

С.Г. Морозов, чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ФГБНУ «НИИОПП», Москва

Ответственный секретарь:

Т.В. Давыдова, д.м.н., ФГБНУ «НИИОПП», Москва

Редакционная коллегия:

В.М. Баранов, акад. РАН, д.м.н., проф., ФГБУ ГНЦ «ФМБЦ им. А.И. Бурназяна», ФМБА, Москва

Т.Д. Власов, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Первый СПБГМУ им. И. П. Павлова», Санкт-Петербург

М.М. Галагудза, чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург

С.В. Грачев, акад. РАН, д.м.н., проф., ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва

И.С. Гущин, чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

М.А. Даренская, д.б.н., проф., ФГБНУ «НЦПЗСРЧ», Иркутск

Г. Дауни, д.б.н., проф., Университет Северного Техаса, Форт-Уэрт, Техас, США

С.И. Колесников, акад. РАН, д.м.н., проф., ФГОУ ВПО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

А.А. Кубатиев, акад. РАН, д.м.н., проф., ФГБНУ «НИИОПП», Москва

А.В. Кубышкин, д.м.н., проф., ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», Симферополь

Д.А. Кудлай, чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии»

ФМБА России, Москва

Н.Е. Кушлинский, акад. РАН, д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», Москва

П.Ф. Литвицкий, чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва

Р. Маллет, д.м.н., проф., Университет Северного Техаса, Форт-Уэрт, Техас, США

О. Манду, д.б.н., проф., Университет Кинай, Хигасисака, Япония

Г.В. Порядин, чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова», Москва

Р. Сыоэлл, д.б.н., проф., Университет Кардиофила, Кардиофила, Великобритания

О.И. Уразова, чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО СибГМУ, Томск

О.В. Шамова, чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ФГБНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург

Б.Г. Юшков, чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ФГБУН «ИИФ УрО» РАН, Екатеринбург

М.Ю. Яковлев, д.м.н., проф., ФГБНУ «НИИОПП», Москва

К.Н. Ярыгин, чл.-корр. РАН, д.б.н., проф., ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии

им. В.Н. Ореховича», Москва

Редакционный совет:

И.Н. Боголепова, акад. РАН, д.м.н., проф., ФГБНУ «НЦ неврологии», Москва

Ю.Ю. Бяловский, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «РязГМУ», Рязань

О.И. Гурнина, чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ психиатрии и наркологии

им. В.П. Сербского», Москва

О.М. Драпкина, акад. РАН, д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ ТПМ», Москва

А.Д. Дурнев, чл.-корр. РАН, д.м.н., проф., ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных

биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва

В.П. Куликов, д.м.н., проф., ООО «АМИ ПДО», Барнаул

В.П. Михайлов, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Ярославский ГМУ», Ярославль

Д.Б. Никитиюк, акад. РАН, д.м.н., проф., ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва

В.Г. Овсянников, д.м.н., проф., РостГМУ, Ростов-на-Дону

М.В. Осиков, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «ЮУГМУ», Челябинск

Д.А. Сычев, акад. РАН, д.м.н., проф., ФГБОУ ДПО «РМАНПО», Москва

А.А. Чурин, д.м.н., проф., Томский НИМЦ РАН «НИИ фармакологии и регенеративной медицины

им. Е.Д. Гольдберга», Томск

В.Н. Шабалин, акад. РАН, д.м.н., проф., ФГБНУ «НИИОПП», Москва

Media Registration Certificate:
reg. No. 1086 dated 7.12.1990, registered
by the USSR State Press Committee.
The record of media registration
has been amended by the Federal Service
for Supervision of Communications, Infor-
mation Technology and Mass
Communications – registration number PI
No. FS77-84858 dated 21.03.2023

Mailing address:
Baltiyskaya str., 8, Moscow, 125315,
Russian Federation,
FSBSI «IGPP», Room 379

E-mail: path.physiol@yandex.ru
Home page: www.fiet.ru

Publisher:
FSBSI «IGPP», Baltiyskaya str., 8, Mos-
cow, 125315, Russian Federation
E-mail: niiopp@mail.ru

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

Two-year impact factor
according to RSCI on 2023 was 0,560

Subscription Index in «Ural Press»:
71456

Publication format: 205 × 265 mm
Printing: DigitalCirculation: 100 copies

The electronic version of the journal is
also sent to specialized organizations in
the country and abroad

Issuing editor N.Yu. Klishina
Editor of 1st category N.R. Sobol
Technical Editor E.M. Arkhipova

Sent into set on 19.09.2025
Signed for publication on 25.09.2025
Published on 30.09.2025

Printed: LLC «Megapolis-Print»
Printing house address:
Leningradsky Prospekt, 78, bild. 1,
125315, Moscow, Russian Federation

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

©Federal State Budgetary Scientific
Institution «Institute of General Pathology
and Pathophysiology», 2025.

ISSN 0031-2991

Pat Fiziol Eksp Tер
2025. Vol. 69. No 3. 1–128.

ISSN 0031-2991



9 770031 299001

Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology
and Pathophysiology»
Russian Scientific Society of Pathophysiolists

PATOLOGICHESKAYA FIZIOLOGIYA I EKSPERIMENTAL'NAYA TERAPIYA

*Pathological physiology and experimental therapy
Quarterly reviewed science and practical journal
Published since 1957*

Vol. 69 № 3 • 2025

July–September

Editor-in-chief:

A.M. Dygai, Acad. RAS, DSc, Prof., Inst. of General Pathology and Pathophysiology,
Moscow, Russia

Deputy chief editors:

L.I. Kolesnikova, Acad. RAS, DSc, Prof., Scientific Center for Family Health
and Human Reproduction, Irkutsk, Russia

S.G. Morozov, Corr. M. of RAS, DSc, Prof., Institute of General Pathology and Pathophysiology,
Moscow, Russia

Executive editor:

T.V. Davydova, DSc, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

Editorial Board:

V.M. Baranov, Acad. RAS, DSc, Prof., «A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center» of the FMBA
of Russia, Moscow, Russia

T.D. Vlasov, DSc, Prof., «First St. Petersburg State Medical University named after acad. I.P. Pavlova»,
St. Petersburg, Russia

M.M. Galagudza, DSc, Prof., Corr. Member of RAS, «NMRC named after V.A. Almazov», St. Petersburg,
Russia

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

I.S. Gushchin, Corr. Member of RAS, DSc, Prof., Institute of Immunology, Moscow, Russia

M.A. Darenetskaya, DSc, Prof., Scientific Center for Family Health and Human Reproduction, Irkutsk, Russia

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

S.I. Kolesnikov, Acad. RAS, DSc, Prof., Moscow State University, Moscow, Russia

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

A.V. Kubyshkin, DSc, Prof., «V.I. Vernadsky Crimean Federal University», Simferopol, Russia

D.A. Kudlay, Corr. Member of RAS, DSc, Prof., Institute of Immunology, Moscow, Russia

N.E. Kushlinsky, «National Medical Research Center of Oncology named after N.N. Blokhin», Moscow, Russia

P.F. Litvitskiy, Corr. Member of RAS, DSc, Prof., First Mos. 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. Member of RAS, DSc, Prof., «Pirogov National Research Med. Univ.», Moscow, Russia

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

O.I. Urazova, DSc, Prof., Corr. Member of RAS, Sib. State Med. University, Tomsk

O.V. Shamova, Corr. Member of RAS, DSc, Prof., Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

B.G. Yushkov, Corr. Member of RAS, DSc, Prof., Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch
of the RAS, Ekaterinburg, Russia

M.Yu. Yakovlev, MD, Prof., Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

K.N. Yarygin, Corr. Member of RAS, DSc, Prof., «Research Institute of Biomedical Chemistry named after
V.N. Orekhovich», Moscow, Russia

Advisory Committee:

I.N. Bogolepova, Acad. RAS, DSc, Prof., Scientific Center of Neurology, Moscow, Russia

Yu.Yu. Byalovskiy, DSc, Prof., Ryazan State Med. University, Ryazan, Russia

O.I. Gurina, Corr. Member of RAS, DSc, Prof., NMRC of Psychiatry and Narcology
named after V.P. Serbsky, Moscow

O.M. Drapkin, Acad. RAS, MD, Prof., «NMRC of Therapy and Preventive Medicine», Moscow

A.D. Durnev, Corr. Member of RAS, DSc, Prof., FRC of original and promising Biomedical and Pharmaceutical
Technologies, Moscow

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

V.P. Mikhailov, DSc, Prof., Yaroslavl State Med. University, Yaroslavl, Russia

D.B. Nikityuk, Acad. RAS, DSc, Prof., FRC Nutrition and Biotechnology, Moscow, Russia

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

M.V. Osikov, DSc, Prof., South Ural State Med. University, Chelyabinsk, Russia

D.A. Sychev, Acad. of RAS, DSc, Prof., FGBOU DPO «RMANPO», Moscow, Russia

A.A. Churin, DSc, Tomsk National Research Medical Center «Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine
named after E.D. Goldberg», Tomsk, Russia

V.N. Shabalin, Acad. RAS, MD, Prof., Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Черкас В.Н., Бодрова Н.Р. Влияние фотодинамической терапии и оперативного лечения экспериментального РМЖ на взаимосвязь микроРНК (-21, -27а, -221, -429) в тимусе со структурой тимуса

Филиппов А.Г., Синюкова Т.А., Московцев А.А. Эритросомы – получение и поглощение эндотелиоцитами *in vitro*

Крюкова В.В., Цепелев В.Л., Терешков П.П. Изменения субпопуляционного состава инфильтрирующих опухоль цитотоксических Т-лимфоцитов и экспрессии ко-ингибирующих молекул на их поверхности при колоректальном раке III стадии

Гадиева В.А., Иванов А.В., Кубатиев А.А., Дзгоева Ф.У. Цистеин, гомоцистеин и их редокс-статус как предиктор летального исхода у больных на гемодиализе

Киреева А.В., Коленчукова О.А., Бирюкова Е.А., Столляр С.В. Морфологические и морфометрические характеристики печени при воздействии наночастиц ферригидрита

Воробьева В.В., Левченкова О.С., Ленская К.В., Шабанов П.Д. Анализ зависимости эндогенного дыхания митохондрий миокарда от физических характеристик вибрации

Иванов К.П., Долгих В.Т. Индексная оценка параметров функционирования сердечно-сосудистой системы у постинсультных больных

Калитин К.Ю., Муха О.Ю., Войнов В.Б. Биопотенциал-опосредованный подход к анализу эффектов производного бензимидазола с 5-HT2A антагонистической активностью и оценка его антипсихотической активности на модели неонатальной деструкции гиппокампа у крыс

Клименко А.В., Шатохина С.Н., Шабалин В.Н., Александрин В.В., Перцов С.С. Сывороточные маркеры общего состояния организма крыс с болевым синдромом челюстно-лицевой области

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Тищевская Н.В., Максаков Д.А. Характеристика состояния эритрона у крыс с экспериментальной доброкачественной гиперплазией предстательной железы

ОБЗОРЫ

Донников М.Ю., Морозкина А.В., Коваленко Л.В. Роль микробиоты в патогенезе и патоморфозе муковисцидоза

Рыкунова А.Я., Зверев Я.Ф. Некоторые аспекты патофизиологии ревматоидного артрита

Сергеева Е.Ю. Жидкостная биопсия: перспективы применения у пациентов со злокачественной меланомой

ПРОБЛЕМА

Геворкян Н.М. Биологический смысл наличия лимфоцитов в сперме. Гипотеза

CONTENTS

ORIGINAL ARTICLES

Kazakov O.V., Kabakov A.V., Poveshchenko A.F., Cherkas V.N., Bodrova N.R. The effect of photodynamic therapy and surgical treatment of experimental breast cancer on the relationship of microRNAs (-21, -27a, -221, -429) of thymic mRNA with the thymus structure

Filippov A.G., Sinyukova T.A., Moskovtsev A.A. Erythrosomes: preparation and uptake by the endothelium *in vitro*

Kryukova V.V., Tsepelev V.L., Tereshkov P.P. Changes in the subpopulation composition of tumor-infiltrating cytotoxic T-lymphocytes and the expression of co-inhibitory molecules on their surface in stage III colorectal cancer

Gadieva V.A., Ivanov A.V., Kubatiev A.A., Dzgoeva F.U. Cysteine, homocysteine and their redox status as a predictor of death in patients on hemodialysis

Kireeva A.V., Kolenchukova O.A., Biryukova E.A., Stolyar S.V. Morphological and morphometric characteristics of the liver in exposed to ferrihydrite nanoparticles

Vorobieva V.V., Levchenkova O.S., Lenskaya K.V., Shabannov P.D. Analysis of the dependence of myocardial mitochondria endogenous respiration on physical characteristics of vibration

Ivanov K.P., Dolgikh V.T. Index assessment of parameters of the cardiovascular system functioning in post-stroke patients

Kalitin K.Yu., Mukha O.Yu., Voynov V.B. A biopotential-mediated approach to studying the effects of a benzimidazole derivative with 5-HT2A antagonist activity and evaluating its antipsychotic effects in the neonatal hippocampal lesion model in rats

Klimenko A.V., Shatokhina S.N., Shabalin V.N., Aleksandrin V.V., Pertsov S.S. Serum markers of general body condition of rats with maxillofacial pain syndrome

BRIEF MESSAGES

Tishevskaya N.V., Maksakov D.A. Characteristics of the erythron in rats with experimental benign prostatic hyperplasia

Donnikov M.Yu., Morozkina A.V., Kovalenko L.V. The role of microbiota in pathogenesis and pathomorphosis of cystic fibrosis

Rykunova A.Ya., Zverev Ya.F. Some aspects of the pathophysiology of rheumatoid arthritis

Sergeeva E.Yu. Liquid biopsy: Prospects for use in patients with malignant melanoma

PROBLEM

Gevorkyan N.M. Biological significance of the presence of lymphocytes in semen. A hypothesis

Оригинальные исследования

© Коллектив авторов, 2025

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

Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Черкас В.Н., Бодрова Н.Р.

Влияние фотодинамической терапии и оперативного лечения экспериментального РМЖ на взаимосвязь микроРНК (-21, -27a, -221, -429) в тимусе со структурой тимуса

«НИИ клинической и экспериментальной лимфологии» – филиал ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики» СО РАН, 630060, Новосибирск, Россия, ул. Тимакова, д. 2

Цель исследования: выявить влияние фотодинамической терапии (ФДТ) и ее сочетания с оперативным лечением РМЖ на взаимосвязь количества микроРНК (-21, -27a, -221, -429) в тимусе со структурой данной железы крыс-самок Вистар.

Методика. Исследование проведено на половозрелых самках крыс Вистар ($n=80$). Оценку взаимосвязи структуры тимуса с уровнями микроРНК в тимусе проводили после: ФДТ РМЖ (интрамаммарное введение N-метил-N-нитрозомочевины); после ФДТ и последующего оперативного лечения РМЖ.

Результаты. После ФДТ РМЖ выявлены взаимосвязи только проонкогенных микроРНК (-21, -27a, -221) с клетками кортико-медиуллярной зоны и центральной части мозгового вещества в сравнении с интактной группой и с РМЖ без лечения. Морфологические преобразования в тимусе свидетельствуют о влиянии ФДТ на процессы как позитивной, так и негативной селекции. Взаимосвязи микроРНК в тимусе с морфологическими преобразованиями в тимусе могут свидетельствовать о влиянии ФДТ РМЖ на ослабление пролиферативной активности, дифференцировки и миграции Т-лимфоцитов из тимуса по сравнению с РМЖ без лечения. После ФДТ и оперативного лечения РМЖ, в сравнении с только ФДТ РМЖ, в тимусе значительно увеличивается количество микроРНК (-21, -27a, -429). Выявлены взаимосвязи: в субкапсулярной зоне – иммунобластов с микроРНК-21, малых лимфоцитов с микроРНК-429; в кортико-медиуллярной зоне – малых лимфоцитов с микроРНК-27a; в центральной части мозгового вещества – иммунобластов с микроРНК-21. В субкапсулярной зоне и центральной части коркового вещества уменьшается количество иммунобластов и средних лимфоцитов. В корковом веществе количество малых лимфоцитов увеличивается, а в мозговом веществе и кортико-медиуллярной зоне уменьшается. Снижается количество эпителиоретикулярных клеток в корковом и мозговом веществе.

Заключение. После ФДТ и хирургического удаления опухоли, в сравнении с только ФДТ РМЖ и наряду с морфологическими данными, выявленные взаимосвязи клеток структурных компонентов тимуса с количественными изменениями микроРНК в тимусе могут быть обусловлены снижением его пролиферативной активности, активности процессов как позитивной, так и негативной селекции Т-клеток, а также снижением активности процессов дифференцировки и миграции Т-лимфоцитов из тимуса.

Ключевые слова: тимус; рак молочной железы; фотодинамическая терапия; оперативное лечение; опыты на животных

Для цитирования: Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Черкас В.Н., Бодрова Н.Р. Влияние фотодинамической терапии и оперативного лечения экспериментального РМЖ на взаимосвязь микроРНК (-21, -27a, -221, -429) в тимусе со структурой тимуса. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*, 2025; 69(3): 4–11.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.4-11

Для корреспонденции: Казаков Олег Васильевич, e-mail: kazakoff_oleg@mail.ru

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Казаков О.В., Повещенко А.Ф.; сбор и обработка материала – Казаков О.В., Кабаков А.В., Черкас В.Н., Бодрова Н.Р.; статистическая обработка материала – Казаков О.В., Кабаков А.В.; написание текста – Казаков О.В., Повещенко А.Ф.; редактирование – Повещенко А.Ф. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 04.04.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Kazakov O.V., Kabakov A.V., Poveshchenko A.F., Cherkas V.N., Bodrova N.R.

The effect of photodynamic therapy and surgical treatment of experimental breast cancer on the relationship of microRNAs (-21, -27a, -221, -429) of thymic mRNA with the thymus structure

Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, a Branch of the Institute of Cytology and Genetics Federal Research Center, 2 Timakova St., Novosibirsk, 630060, Russian Federation

Aim. To identify the effect of photodynamic therapy (PDT) and its combination with surgical treatment of breast cancer on the relationship of thymic microRNA (-21, -27a, -221, -429) with the thymus structure in female Wistar rats.

Methods. The study was conducted on 80 anesthetized mature female Wistar rats. The relationship between the thymus structure and the amount of microRNA in the thymus was assessed after PDT for breast cancer (intramammary administration of N-methyl-N-nitrosourea) and after PDT and surgical treatment for breast cancer.

Results. After PDT, relationships were found only between pro-oncogenic microRNAs (-21, -27a, -221) and cells in the corticomedullary zone and the central part of the medulla compared with the intact group and with breast cancer without treatment. Morphological changes in the thymus indicated the effect of PDT on the processes of both positive and negative selection. The relationships between thymic microRNAs and morphological changes in the thymus may indicate the effect of PDT on the attenuation of proliferative activity, differentiation and migration of T lymphocytes from the thymus compared to untreated breast cancer. PDT and subsequent surgical treatment of breast tumor, as compared to the PTD therapy, induced a significant increase in thymic microRNAs (-21, -27a, -429). The following relationships were found: in the subcapsular zone, immunoblasts with microRNA-21 and small lymphocytes with microRNA-429; in the corticomedullary zone, small lymphocytes with microRNA-27a; in the central part of the medulla, immunoblasts with microRNA-21. Compared with PDT, the number of immunoblasts and medium lymphocytes decreased in the subcapsular zone and the central part of the cortical substance. The number of small lymphocytes increased in the central part of the cortical substance, and the number of small lymphocytes decreased in the central medulla and the cortico-medullary zone. The number of epithelial reticular cells in the central part of the cortical substance and medullary substance was reduced.

Conclusion. This study revealed relationships of cells in thymus structural components with quantitative changes in thymic microRNA after PDT and surgical removal of the tumor, in comparison with PDT alone and along with morphological data. These relationships may be due to a decrease in the thymus proliferative activity, the activity of the processes of both positive and negative selection of T cells, as well as decreased activity of the processes of differentiation and migration of T lymphocytes from the thymus.

Keywords: thymus gland; breast cancer; photodynamic therapy; surgical treatment; animal experiments

For citation: Kazakov O.V., Kabakov A.V., Poveshchenko A.F., Cherkas V.N., Bodrova N.R. The effect of photodynamic therapy and surgical treatment of experimental breast cancer on the relationship of microRNAs (-21, -27a, -221, -429) of thymic mRNA with the thymus structure. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy. Russian Journal)*. 2025; 69(3): 4–11. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.4-11

Author's **contribution:** concept and design of the study – Kazakov O.V., Poveshchenko A.F.; collection and processing of material – Kazakov O.V., Kabakov A.V., Cherkas V.N., Bodrova N.R.; statistical processing – Kazakov O.V., Kabakov A.V.; writing the text – Kazakov O.V., Poveshchenko A.F.; editing the text – Poveshchenko A.F. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: Oleg V. Kazakov, Candidate of Biological Sciences, leading researcher, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, a Branch of the Institute of Cytology and Genetics Federal Research Center, 2 Timakova St., Novosibirsk, 630060, Russian Federation, e-mail: kazakoff_oleg@mail.ru

Information about the authors:

Kazakov O.V., <https://orcid.org/0000-0003-3947-4038>
 Kabakov A.V., <https://orcid.org/0000-0002-4741-6674>
 Poveshchenko A.F., <https://orcid.org/0000-0002-4433-7110>
 Cherkas V.N., <https://orcid.org/0000-0002-0380-9273>
 Bodrova N.R., <https://orcid.org/0009-0009-4231-647X>

Financing. The study had no sponsorship

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

Received 04.04.2025

Accepted: 25.08.2025

Published: 30.09.2025

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) – одно из наиболее распространенных злокачественных новообразований у женщин во всем мире. Одним из методов лечения злокачественных образований является фотодинамическая терапия (ФДТ), действие которой направлено на угнетение функции и пролиферативной активности опухолевых клеток, на разрушение микроциркуляторного русла, индукцию апоптоза и развитие некроза в месте воздействия [1, 2].

Т-клетки считаются основными участниками противоопухолевого иммунитета. Тимус является центральным лимфоидным органом для развития Т-клеток, и от его структурного состояния зависят поддержание гомеостаза в организме и обеспечение стабильности его антигенных структур [3]. Тимус вырабатывает наивные Т-клетки, способные дифференцироваться в популяции эффекторных Т-клеток и Т-клеток памяти, обеспечивая долгосрочные иммунные реакции на различные опухолевые антигены [3, 4]. В регуляции иммунного ответа участвуют миРНК, которые воздействуют на процессы созревания, пролиферации, дифференцировки и активации клеток иммунной системы, влияя на онкогенные или опухоль-супрессирующие механизмы [5]. При РМЖ проведенные исследования показали изменения в экспрессии миРНК в опухоли молочной железы, в сыворотке крови, лимфе и тимусе. Рассматривается также роль миРНК в развитии и инволюции тимуса [6, 7]. МиРНК играют важную регуляторную роль в развитии тимоцитов, в том числе в развитии лимфоидных клеток-предшественников в костном мозге, а также в DN/DP и положительном и отрицательном отборе тимоцитов [8]. Дальнейшее изучение влияния миРНК на иммунную систему расширит понимание функций миРНК в механизме регуляции развития тимоцитов. Этому может способствовать выявление взаимосвязей между экспрессией миРНК в тимусе и структурными преобразованиями в самой вилочковой железе.

Интересным для понимания участия миРНК в регуляции иммунного ответа может быть изучение взаимосвязей между уровнями проонкогенных миРНК (miR-21, miR-27a, miR-221) и опухоль-супрессирующей миРНК (miR-429) в тимусе после ФДТ РМЖ и после оперативного лечения РМЖ. Эти взаимосвязи в литературе не рассматривались. Выявленные взаимосвязи могут представлять интерес, поскольку ФДТ способна оказывать стимулирующее влияние на иммунную систему, что может приводить к снижению пролиферативного потенциала, метастазирования и инвазивности клеток РМЖ [9].

Цель исследования – сравнить уровни миРНК (-21, -27a, -221, -429) в тимусе с преобразованиями его структуры при РМЖ, после ФДТ РМЖ и после ФДТ и оперативного лечения РМЖ.

Методика

Работа выполнена на половозрелых самках крыс линии Вистар ($n=80$) с соблюдением принципов надлежащей лабораторной практики и Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях. Возраст крыс на начало эксперимента – 3 месяца (масса 250-300 г). Были сформированы 4 группы животных: 1-я – интактные ($n=20$); 2-я – РМЖ ($n=20$); 3-я – ФДТ РМЖ ($n=20$); 4-я – ФДТ РМЖ с последующим оперативным лечением ($n=20$, операция через 14 дней после ФДТ под наркозом – 40 мг/кг нембутал внутрибрюшинно; Sigma-Aldrich, США).

РМЖ моделировали пяти-кратным подкожным введением N-метил-N-нитрозомочевины (Sigma) с интервалом 7 суток в область второй молочной железы справа. На основании результатов гистологического и иммuno-гистохимического исследований верифицировали аналог люминального В-типа РМЖ человека.

ФДТ РМЖ проводили через 6 месяцев от момента индукции РМЖ лазерным аппаратом «ЛАХТА-МИЛОН» (Группа компаний «МИЛОН»). Фотосенсибилизатор «Радахлорин» вводили крысам в затемнённой комнате однократно внутрибрюшинно (1,2 мг/кг) за 2 ч до лазерного облучения опухоли. После проведения ФДТ в течение 1 недели соблюдался ограниченный световой режим (крысы находились в затемнённой комнате). Световое воздействие на опухоль молочной железы проводили излучением с длиной волны 662 нм в дозе 300 Дж/см². Всех животных из эксперимента выводили в возрасте 9 месяцев и 3 недель под наркозом (нембутал, «Sigma», 40 мг/кг внутрибрюшинно).

Тотальную РНК выделяли из тимуса с использованием набора реагентов «Вектор-Бест» по инструкции производителя. Для получения кДНК проводили обратную транскрипцию (ОТ) по матрице миРНК. Для определения уровней проонкогенных миРНК-21, миРНК-27a, миРНК-221 и опухоль-супрессирующей миРНК-429 в биологических образцах проводили ОТ-ПЦР в реальном времени на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad Lab). В качестве гена сравнения использовали малую РНК U6 («Вектор-Бест»). Количество миРНК в опытных образцах выражалось в относительных единицах и вычислялось по формуле:

$$2^{-\Delta\Delta Ct}$$

где $\Delta\Delta Ct = (Ct_{miR} - Ct_{U6})_{\text{опытный образец}} / (Ct_{miR} - Ct_{U6})_{\text{контрольный образец}}$

Гистологические препараты изучали с помощью окулярной тестовой системы при увеличении 32, 400 и 1000 раз. В разных структурных компонентах тимуса подсчитывали абсолютное количество клеток на стандартной площади 2025 мкм². Клетки тимуса подсчитывались в четырех зонах: субкапсулярной, внутренней зоне коркового и мозгового вещества, а также в кортико-медиуллярной зоне.

Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе Statistica 10.0. Меры центральной тенденции и рассеяния описаны медианой (Me), нижним (Q1) и верхним (Q3) квартилем; достоверность различий рассчитывали по *U*-критерию Манна–Уитни при $p \leq 0,05$.

Результаты

После ФДТ РМЖ в тимусе крыс-самок Вистар, как и в группе с РМЖ без лечения, уровни микроРНК-21, микроРНК-27а и микроРНК-429 были снижены по сравнению с интактной группой (табл. 1).

После ФДТ и оперативного лечения РМЖ, в сравнении с только ФДТ, возросло количество микроРНК-21 в тимусе в 15 раз, микроРНК-27а – в 58 раз, микроРНК-221 – на 36%, а микроРНК-429 – в 19 раз (табл. 1).

После ФДТ РМЖ в тимусе крыс-самок Вистар выявлены взаимосвязи в кортико-медиуллярной зоне: иммунобластов с микроРНК-21; средних лимфоцитов и макрофагов с микроРНК-27а. Отмечаются взаимосвязи в центральной части мозгового вещества: иммунобластов с микроРНК-21; малых лимфоцитов с микроРНК-221 (табл. 2).

После ФДТ и оперативного лечения РМЖ выявлены взаимосвязи (табл. 2): в субкапсулярной зоне – иммунобластов с микроРНК-21 и микроРНК-429, малых лимфоци-

тов с микроРНК-429; в кортико-медиуллярной зоне – малых лимфоцитов с микроРНК-27а; в центральной части мозгового вещества – иммунобластов с микроРНК-21.

После ФДТ РМЖ, в сравнении с РМЖ без лечения, в субкапсулярной зоне коркового вещества и в кортико-медиуллярной зоне тимуса уменьшается количество иммунобластов и увеличивается количество средних (на 23%) и малых лимфоцитов (на 20%) (табл. 3). В центральной части коркового вещества увеличивается количество иммунобластов на 40% и митотически делящихся клеток на 50%, уменьшается количество клеток с пикнотическими ядрами на 50%. В центральной части коркового и мозгового вещества, кортико-медиуллярной зоне возрастает количество макрофагов и эпителиоретикулярных клеток (табл. 3).

После ФДТ и оперативного лечения РМЖ, в сравнении только с ФДТ, в субкапсулярной зоне и центральной части коркового вещества уменьшается количество иммунобластов, и средних лимфоцитов и митотически делящихся клеток (табл. 3). При этом в центральной части коркового вещества увеличивается количество малых лимфоцитов на 18%, а в центральной части мозгового вещества, наоборот, количество малых лимфоцитов снижается на 38%. В кортико-медиуллярной зоне уменьшено количество малых лимфоцитов на 32%, митотически делящихся клеток – на 50%, а также клеток с пикнотическими ядрами.

Обсуждение

В тимусе при РМЖ, по сравнению с интактной группой, уменьшается количество как проонкогенных микроРНК (-21, -27а, -221), так и опухоль-супрессирующей микроРНК-429.

Таблица 1/Table 1

Количество микроРНК в тимусе в норме (интактные), при химически индуцированном раке молочной железы (РМЖ), после фотодинамической терапии (ФДТ) РМЖ, после сочетания ФДТ и последующего оперативного лечения РМЖ (Me (Q1–Q3); усл. ед.)

The amount of microRNA in the thymus in normal (intact) conditions in chemically induced breast cancer (BC), after photodynamic therapy (PDT) of BC, after a combination of PDT and subsequent surgical treatment (ST) of BC (Me (Q1–Q3); conventional units)

Параметр Parameter	Интактная группа Intact group (1)	РМЖ Breast cancer (2)	ФДТ РМЖ PDT BC (3)	ФДТ+резекция РМЖ PDT + ST BC (4)
МикроРНК-21 miRNA-21	4,86 (3,04–5,28)	0,43 (0,38–0,67) ¹	0,49 (0,23–0,56) ¹	7,47 (7,03–7,57) ^{1,2,3}
МикроРНК-27а miRNA-27а	1,32 (0,96–2,54)	0,2 (0,06–0,31) ¹	0,1 (0,07–0,28) ¹	5,89 (3,40–5,33) ^{1,2,3}
МикроРНК-221 miRNA-222	0,85 (0,63–0,96)	0,29 (0,11–0,46) ¹	0,53 (0,21–0,71)	0,72 (0,7–1,19) ²
МикроРНК-429 miRNA-429	1,62 (0,38–3,12)	0,2 (0,11–0,29) ¹	0,17 (0,15–0,43) ¹	3,26 (2,08–4,07) ^{2,3}

Примечание. Цифрами 1, 2 и 3 обозначены статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от величин соответствующих экспериментальных групп.
Note. Numbers 1, 2 and 3 indicate statistically significant differences ($p < 0,05$) from the values of the corresponding experimental groups.

Таблица 2/Table 2

Положительные взаимосвязи клеток структурно-функциональных зон тимуса с микро-РНК в тимусе крыс Вистар интактной группы (Инт), при химически индуцированном РМЖ, после фотодинамической терапии (ФДТ РМЖ), после ФДТ и последующей резекции опухоли молочной железы (ФДТ+опер). Приведен коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r)

Positive relationships between cells of the structural and functional zones of the thymus and microRNA in the thymus of Wistar rats of the intact group (Int), with chemically induced breast cancer, after photodynamic therapy (PTD BC), after PDT and subsequent resection of the breast tumor (PDT+ST). The Spearman rank correlation coefficient (r) is given

Группы / Groups	Клетки / Cells	Микро РНК-21/ miRNA-21	Микро РНК-27а/ miRNA-27a	Микро РНК-221/ miRNA-221	Микро РНК-429/ miRNA-429
Субкапсулярная зона коркового вещества / Subcapsular zone of the cortical substance					
Инт / Int	МЛ / SL	–	–	$r=0,598$	–
РМЖ / BC	МФ / MF	–	–	$r=0,841$	–
	Мит / Mit	–	$r=0,971$	–	–
ФДТ+опер/ PDT+ST	ИМ / IM	$r=0,552$	–	–	$r=0,553$
	МЛ / SL	–	–	–	$r=0,559$
Центральная часть коркового вещества / Central part of the cortical substance					
Инт / Int	Мит / Mit	$r=0,926$	–	–	–
	МФ / MF	$r=0,926$	–	–	–
РМЖ / BC	ИМ / IM	$r=0,602$	–	–	–
Кортико-медуллярная зона / Cortico-medullary zone					
Инт / Int	ИМ / IM	$r=0,745$	–	–	–
РМЖ / BC	ИМ / IM	$r=0,493$	–	–	–
ФДТ / PDT	ИМ / IM	$r=0,902$	–	–	–
	СЛ / ML	–	$r=0,739$	–	–
	МФ / MF	–	$r=0,851$	–	–
ФДТ+опер/ PDT+ST	МЛ / SL	–	$r=0,459$	–	–
Центральная часть мозгового вещества / Central part of the medulla substance					
Инт / Int	ИМ / IM	$r=0,509$	–	–	–
	КПЯ/CNP	$r=0,878$	–	–	–
РМЖ / BC	МФ / MF	–	–	–	$r=0,828$
	КПЯ/CNP	–	$r=0,841$	–	–
ФДТ / PDT	ИМ / IM	$r=0,575$	–	–	–
	МЛ / SL	–	–	$r=0,514$	–
ФДТ+опер/ PDT+ST	ИМ / IM	$r=0,534$	–	–	–

Примечание. ИМ – иммунобласты, СЛ – средние лимфоциты, МЛ – малые лимфоциты, Мит – митозы, КПЯ – клетки с пикнотическими ядрами, МФ – макрофаги.

Note. IM – immunoblasts, ML – medium lymphocytes, SL – small lymphocytes, Mit – mitoses, CNP – cells with nuclear pycnosis, MF – macrophages.

МикроРНК-21 связана с широким спектром раковых заболеваний, включая РМЖ, так как большинство мишней микроРНК-21 являются супрессорами опухолей. Как известно из литературы, нокаут микроРНК-21 у мышей замедлял пролиферацию как CD4⁺, так и CD8⁺ клеток, снижал выработку ими цитокинов и ускорял рост приви-

той опухоли. Эта микроРНК, и известная своей онкогенной активностью, также необходима для реализации иммунных ответов против опухоли [10].

По данным литературы, микроРНК-27а оказывает влияние на клеточный цикл, регулируя активность опухолевых клеток, и может действовать как супрессор при РМЖ

[11]. По-видимому, отмечаемое снижение уровня микроРНК-27а в тимусе при РМЖ может быть также обусловлено тем, что микроРНК-27а нацеливается на ТМЕМ170В (трансмембранный белок 170В, который участвует в негативной регуляции канонического сигнального пути Wnt), подавляет его, ингибируя сигнальный путь Wnt/β-катенина и подавляя пролиферацию клеток РМЖ [12].

Отмечаемое снижение уровня микроРНК-221 в тимусе может быть вызвано тем, что микроРНК-221, связываясь с p53-зависимым модулятором апоптоза (PUMA), блокирует индуцированный белком p53 апоптоз, влияя на трансформацию клетки и активацию клеточной пролиферации [13].

После проведения ФДТ РМЖ количество микроРНК (-21, -27а, -429) в тимусе сохраняется уменьшенным, как и в группе РМЖ без лечения. Интересно, что в самих тканях РМЖ после проведения ФДТ нами ранее было также выявлено уменьшение количества проонкогенных микроРНК (-21, -27а, -221). Это может указывать на снижение пролиферативного потенциала, метастазирования и инвазивности клеток РМЖ после ФДТ [10]. При этом, в отличие от РМЖ без лечения, выявлено отсутствие положительных взаимосвязей между проонкогенными и опухоль-супрессирующими микроРНК в тимусе и клетками субкапсулярной зоны и центральной части коркового вещества. По-видимому, отсутствие взаимосвязей между всеми исследуемыми микроРНК тимуса, куда входит и микроРНК-21 и клетками коркового вещества тимуса может быть обусловлено как снижением экспрессии микроРНК в тимусе, так и снижением пролиферативной активности Т-клеток.

По данным литературы, микроРНК-21 влияет на процессы пролиферации и миграции клеток, путем ингибирования гена *Smad7* через сигнальные пути эпидермального фактора роста (EGF) и трансформирующий фактор роста TGF-β [14]. На уменьшение пролиферативной активности в субкапсулярной зоне коркового вещества тимуса после проведения ФДТ РМЖ, может указывать снижение количества иммунобластов субкапсулярной зоны, при увеличении количества малых лимфоцитов и сохраняющемся, как в группе РМЖ без лечения, уменьшенном количестве малых лимфоцитов в центральной части коркового вещества.

Увеличение количества эпителиоретикулярных клеток в корковом веществе может быть связано со способностью эпителиоретикулоцитов участвовать в процессах как позитивной, так и негативной селекции Т-лимфоцитов [15]. В мозговом веществе тимуса происходит созревание и дифференцировка Т-клеток [16]. На это могут указывать взаимосвязи малых лимфоцитов с микроРНК-221 тимуса, а также увеличение количества эпители-

оретикулярных клеток и макрофагов, которые принимают участие в процессах дифференцировки Т-лимфоцитов [17, 18]. Макрофаги также важны для клиренса апоптотических тимоцитов, о чём может свидетельствовать увеличение их количества в центральной части коркового и мозгового вещества на фоне уменьшения в этих зонах числа с пикнотическими ядрами. В тимусе большинство дважды негативных предшественников CD4+/CD8- (DN) развиваются в линию αβ-Т-клеток, а затем проходят стадии дважды положительных CD4+/CD8+ (DP) и однократно положительных (CD4+CD8-) или (CD4-CD8+) (SP), которые мигрируют в периферические лимфоидные органы через посткапиллярные венулы, расположенные в кортико-медуллярной зоне тимуса.

По данным литературы микроРНК-21 активируют CD4+ и CD8+ Т-клетки через сигнальный путь PTEN/Akt [10]. При этом уровни экспрессии микроРНК-21 на разных стадиях развития Т-клеток указывают на регуляторную функцию в этом процессе: она заметно экспрессируется в незрелых тимоцитах (DN), а в более зрелых клетках снижается [19]. Уменьшением количества микроРНК-21 в тимусе после ФДТ может быть и обусловлено отсутствие в кортико-медуллярной зоне взаимосвязей микроРНК-21 с малыми лимфоцитами, а отмечается только взаимосвязь иммунобластов с микроРНК-21, средних лимфоцитов – с микроРНК-27а. По-видимому, отсутствие взаимосвязей с малыми лимфоцитами наряду с увеличением в кортико-медуллярной зоне количества малых лимфоцитов может указывать на ослабление миграции Т-лимфоцитов из тимуса.

ФДТ и последующее оперативное лечение первичной опухоли молочной железы, в сравнении только с ФДТ РМЖ, вызывают значительное увеличение количества как проонкогенных микроРНК (-21, -27а), так и опухоль-супрессирующей микроРНК-429 в тимусе. Взаимосвязи иммунобластов с микроРНК-21, а также иммунобластов и малых лимфоцитов – с микроРНК-429 в субкапсулярной зоне тимуса могут быть вызваны снижением пролиферативной активности Т-клеток и процессами положительного отбора Т-клеток. На снижение лимфопоэтической функции в тимусе после ФДТ и оперативного вмешательства, в сравнении только с ФДТ, могут указывать уменьшение количества иммунобластов и средних лимфоцитов в субкапсулярной зоне, а также уменьшение количества иммунобластов, средних лимфоцитов и митотически делящихся клеток в центральной части коркового вещества. При этом увеличение количества микроРНК-21 в тимусе может быть вызвано также тем, что микроРНК-21 действует как ключевой регулятор развития и функционирования регуляторных Т-лимфоцитов (Treg). МикроРНК-21 более высоко экспрессируется в Treg по сравнению с обычны-

ми Т-клетками, регулирует пролиферацию Treg и экспрессию транскрипционного фактора FOXP3 регулирующего транскрипцию генов, ответственных за дифференцировку Т-клеток, экспрессию цитокинов, а также факторов, участвующих в супрессии иммунного ответа. При этом увеличение количества микроРНК-27 в тимусе также может отрицательно влиять на индукцию FOXP3 и развитие Treg в тимусе [20, 21]. МикроРНК-21 влияет на процессы пролиферации и миграции раковых клеток путем ингибирования гена *Smad7*, который ингибирует активацию сигнальных путей NF-кВ и TGF-β, ослабляет фиброз, апоптоз, воспаление и дифференцировку Т-лимфоцитов [14, 22].

МикроРНК-429 участвует в регуляции пролиферации и метастатического потенциала РМЖ [23]. Увеличение количества микроРНК-21 в тимусе в послеоперационном периоде может быть связано с воздействием на опухолевые супрессоры, такие как PTEN, PDCD4 и FBXO11 [24, 25]. По-видимому, хирургическим вмешательством также может быть вызвано увеличение микроРНК-27а в тимусе. Эта микроРНК может действовать как супрессор при РМЖ. Она способна подавлять трансмембранный белок 170B (TMEM170B), ингибируя сигнальный путь Wnt/β-катенина и подавляя пролиферацию клеток [11]. При этом выявленное уменьшение количества малых лимфоцитов как в центральной части мозгового вещества тимуса, так и в кортико-медуллярной зоне (количества малых лимфоцитов уменьшено до значений интактной группы) наряду с выявленными взаимосвязями количества микроРНК-27а в тимусе с малыми лимфоцитами кортико-медуллярной зоны может быть обусловлено ослаблением активности процессов позитивной и негативной селекции Т-клеток [26]. На это может указывать взаимосвязь микроРНК-21 тимуса с иммунобластами коркового и мозгового вещества на фоне уменьшения количества иммунобластов, митотически делящихся клеток в центральной части коркового вещества, и клеток с пикнотическими ядрами в корковом веществе и кортико-медуллярной зонах тимуса. При этом после ФДТ и последующего оперативного лечения отмечаемое уменьшение количества эпителиоретикулярных клеток в центральной части мозгового вещества до значений интактной группы может быть обусловлено как снижением активности процессов дифференцировки Т-лимфоцитов, так и снижением активности миграции Т-лимфоцитов из тимуса в сравнении с только ФДТ РМЖ.

Заключение

После проведения ФДТ количество микроРНК (-21, -27а, -429) в тимусе сохраняется уменьшенным, как и в группе РМЖ без лечения. Выявлены взаимосвязи только проонкогенных микроРНК (-21, 27а, -221) с клетками

кортико-медуллярной зоны и центральной части мозгового вещества в сравнении с интактной группой и с РМЖ без лечения. Морфологические преобразования в тимусе свидетельствуют о влиянии ФДТ РМЖ на процессы как позитивной, так и негативной селекции. Взаимосвязи микроРНК в тимусе с морфологическими преобразованиями в данной железе могут указывать на ослабление пролиферативной активности, дифференцировки и миграции Т-лимфоцитов по сравнению с РМЖ без лечения.

После ФДТ с последующего оперативного удаления опухоли значительно увеличивается количество как проонкогенных микроРНК (-21, -27а), так и опухоль-супрессирующей микроРНК-429 в тимусе в сравнении с только ФДТ РМЖ. Взаимосвязи микроРНК в тимусе с морфологическими преобразованиями в тимусе после ФДТ РМЖ и последующей резекции опухоли молочной железы, по сравнению с только ФДТ РМЖ, а также структурные преобразования в тимусе могут быть обусловлены снижением его пролиферативной активности, активности процессов как позитивной, так и негативной селекции Т-клеток, а также снижением активности процессов дифференцировки и миграции Т-лимфоцитов из тимуса.

Литература (п.п. 1-5; 7-26 см. References)

6. Казаков О.В., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Конончук В.В., Стрункин Д.Н., Гуляева Л.Ф. и др. Влияние фотодинамической терапии на уровень микроРНК в тканях рака молочной железы крыс-самок Вистар. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2022; 173(4): 452–55. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2022-173-4-452-455>

References

1. Aniogo E.C., Plackal Adimuriyil George B., Abrahamse H. The role of photodynamic therapy on multidrug resistant breast cancer. *Cancer Cell Int.* 2019; 19: ID 91. <https://doi.org/10.1186/s12935-019-0815-0>
2. Abrahamse H., Hamblin M.R. New photosensitizers for photodynamic therapy. *J. Biochem.* 2016; 473(4): 347–64. <https://doi.org/10.1042/BJ20150942>
3. Wang W., Thomas R., Sizova O., Su D-M. Thymic function associated with cancer development, relapse, and antitumor immunity – a mini-review. *Front. Immunol: Sec. T cell biology*. 2020; 11: 773. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00773>
4. Savino W., Lepletier A. Thymus-derived hormonal and cellular control of cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023; 14: 1168186. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1168186>
5. Wengong Si., Jiaying S., Huilin Z., Weimin F. The role and mechanisms of action of microRNAs in cancer drug resistance. *Clinical Epigenetics*. 2019; 11: 25. <https://doi.org/10.1186/s13148-018-0587-8>
6. Kazakov O.V., Kabakov A.V., Poveshchenko A.F., Kononchuk V.V., Strunkin D.N., Gulyaeva L.F. et al. Effect of photodynamic therapy on the level of microRNA in breast cancer tissues of female Wistar rats.

- Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2022; 173(4): 452–5. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2022-173-4-452-455> (In Russian)
7. Xu M., Gan T., Ning H., Wang L. MicroRNA Functions in Thymic Biology: Thymic Development and Involution. *Front. Immunol. Sec. Immunological Tolerance and Regulation.* 2018; 9: 2063. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02063>
 8. Hu L., Mao L., Liu S., Zhao J., Chen C., Guo M., et al. Functional Role of MicroRNAs in Thymocyte Development. *Int Arch Allergy Immunol.* 2019; 178(4): 315–22. <https://doi.org/10.1159/000496093>
 9. Michael R.H., Heidi A. Factors Affecting Photodynamic Therapy and Anti-Tumor Immune Response. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry.* 2021; 21(2): 123–36. <https://doi.org/10.2174/1871520620666200318101037>
 10. He W., Wang C., Mu R., Liang P., Huang Z., Zhang J., et al. MiR-21 is required for anti-tumor immune response in mice: an implication for its bi-directional roles. *Oncogene.* 2017; 36(29): 4212–23. <https://doi.org/10.1038/onc.2017.62>
 11. Li X., Xu M., Ding L., Tang J. MiR-27a: A Novel Biomarker and Potential Therapeutic Target in Tumors. *J Cancer.* 2019; 10(12): 2836–48. <https://doi.org/10.7150/jca.31361>
 12. Li M. Han Y. Zhou H., Li X., Lin C., Zhang E., et al. Transmembrane protein 170b is a novel breast tumorigenesis suppressor gene that inhibits the Wnt/β-catenin pathway. *Cell Death & Disease.* 2018; 9(2). ID 91. <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0128-y>
 13. Matsuzaki J., Suzuki H. Role of microRNAs-221/222 in digestive systems. *J. Clin. Med.* 2015; 4(8): 1566–77. <https://doi.org/10.3390/jcm4081566>
 14. Han M., Wang F., Gu Y., Pei X., Guo G., Yu C., et al. MicroRNA-21 induces breast cancer cell invasion and migration by suppressing Smad7 via EGF and TGF-β pathways. *Oncology Reports.* 2016; 35(1): 73–80. <https://doi.org/10.3892/or.2015.4360>
 15. Shi Y.Y., Ming Z.Z. Medullary thymic epithelial cells. the indispensable player in central tolerance. *Science China Life Sciences.* 2013; 56(5): 392–8. <https://doi.org/10.1007/s11427-013-4482-4>
 16. Thapa P., Farber D.L. The Role of the thymus in the immune response. *Thorac. Surg. Clin.* 2019; 29(2): 123–31. <https://doi.org/10.1016/j.thorsurg.2018.12.001>
 17. Wang H., Zúñiga-Pflücker J.C. Thymic Microenvironment: Interactions Between Innate Immune Cells and Developing Thymocytes. *Front. Immunol: Sec. T cell biology.* 2022; 13: 885280. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.885280>
 18. Fujimori S., Ohigashi I. The role of thymic epithelium in thymus development and age-related thymic involution. *J Med Invest.* 2024; 71(1.2): 29–39. <https://doi.org/10.2152/jmi.71.29>
 19. Kunze-Schumacher H., Winter S.J., Imelmann E., Krueger A. miRNA miR-21 Is Largely Dispensable for Intrathymic T-Cell Development. *Front. Immunol. Sec. T Cell Biology.* 2018; 9: ID 2497. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02497>
 20. Liu C., Li N., Liu G. The Role of MicroRNAs in Regulatory T Cells. *Journal of Immunology Research.* 2020; (3):1–12. <https://doi.org/10.1155/2020/3232061>
 21. Hippen K.L., Loschi M., Nicholls J., MacDonald K.P.A., Blazar B.R. Effects of MicroRNA on Regulatory T Cells and Implications for Adoptive Cellular Therapy to Ameliorate Graft-versus-Host Disease. *Front. Immunol.* 2018; 9: ID57. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00057>
 22. Hu Y., He J., He L., Xu B., Wang Q. Expression and function of Smad7 in autoimmune and inflammatory diseases. *Journal of Molecular Medicine.* 2021; 99: 1209–20 <https://doi.org/10.1007/s00109-021-02083-1>
 23. Cava1 C., Novello C., Martelli C., Lo Dico A., Ottobrini L., Piccotti F., et al. Theranostic application of miR-429 in HER2+ breast cancer. *Theranostics.* 2020; 10(1): 50–61. <https://doi.org/10.7150/thno.36274>
 24. Yang C.H., Pfeffer S.R., Sims M., Yue J., Wang Y., Linga V.G., et al. The oncogenic microRNA-21 inhibits the tumor suppressive activity of FBXO11 to promote tumorigenesis. *Journal of Biological Chemistry.* 2015; 290(10): 6037–46. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.632125>
 25. Schieber M., Marinaccio C., Bolanos L.C., Haffey W.D., Greis K.D., Starczynowski D.T., et al. FBXO11 is a candidate tumor suppressor in the leukemic transformation of myelodysplastic syndrome. *Blood Cancer J.* 2020; 10(98): <https://doi.org/10.1038/s41408-020-00362-7>
 26. Wang H.-X., Pan W., Zheng L., Zhong X.-P., Tan L., Liang Z., et al. Thymic Epithelial cells contribute to thymopoiesis and T cell development. *Front. Immunol. Sec. T Cell Biology.* 2020; 10: 3099. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03099>

Сведения об авторах:

Казаков Олег Васильевич, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. физиологии протективной системы НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, e-mail: kazakoff_oleg@mail.ru;

Кабаков Алексей Васильевич, канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. физиологии протективной системы НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, e-mail: kabakov_av85@mail.ru;

Повещенко Александр Федорович, доктор мед. наук, руководитель лаб. физиологии протективной системы НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru;

Черкас Валерия Николаевна, канд. вет. наук, науч. сотр. лаб. физиологии протективной системы НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, e-mail: valeriya_korol@mail.ru;

Бодрова Наталья Романовна, мл. науч. сотр. лаб. физиологии протективной системы НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, e-mail: bodrova-frolova@yandex.ru

Филиппов А.Г.¹, Синюкова Т.А.², Московцев А.А.¹

Эритросомы – получение и поглощение эндотелиоцитами *in vitro*

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

²Бюджетное учреждение высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский
государственный университет», 628412, Сургут, Россия, проспект Ленина, д. 1

Введение. Многие болезни человека патогенетически связаны с дисфункцией эндотелия, что мотивирует разрабатывать лекарственные препараты, воздействующие на эндотелиоциты. Для решения задачи разработки терапии, нацеленной на эндотелий, предлагается использовать методы наномедицины, а именно создание наноразмерных структур, доставляющих лекарственный препарат в эндотелиоциты. Перспективным кандидатом на роль нетоксичного, биосовместимого носителя лекарственных препаратов в эндотелиоциты являются нановезикулы из мембран эритроцитов человека. **Цель работы** – разработка технологии получения наноразмерных везикул мембран эритроцитов человека загруженных модельным соединением, и изучение поглощения полученных везикул эндотелием на модели *in vitro*.

Методика. Методом гипотонического гемолиза получали эритроцитарные тени, загружали мембранонепроницаемым флуоресцирующим красителем, восстанавливали изотоничность среды и ультразвуковой гомогенизацией получали эритроцитарные наноразмерные везикулы, которые затем отмывали методом диализа или ультраконцентрифугирования. Характеризовали полученные эритросомы методами фотонно-корреляционной спектроскопии и просвечивающей электронной микроскопии с обратным контрастом. Изучали поглощение полученных эритросом клетками линии EA.Nу926 с использованием метода проточной цитофлуориметрии и оценивали цитотоксичность эритросом в MTT-тесте.

Результаты. Получены и охарактеризованы препараты эритросом – наноразмерных везикул из замкнутых теней эритроцитов. Показано, что эритросомы загруженные мембранонепроницаемыми флуоресцирующими красителями поглощаются клетками линии эндотелиоцитов EA.Nу926, рассматриваемыми как модель эндотелия *in vitro*. Транспорт эритросом в эндотелиоциты является энергозависимым, т.к. блокируется при 4°C. Эритросомы не оказывают цитотоксического действия.

Заключение. Разработана простая и технологичная методика получения из мембран эритроцитов человека наноразмерных везикул, загруженных модельным соединением и поглощаемых клетками эндотелиоцитов, что позволяет рассматривать полученные эритросомы как перспективные средства доставки лекарственных препаратов в эндотелий.

Ключевые слова: эритросомы; эритроциты; эндотелий; наномедицина

Для цитирования: Филиппов А.Г., Синюкова Т.А., Московцев А.А. Эритросомы – получение и поглощение эндотелиоцитами *in vitro*. Патологическая физиология и экспериментальная терапия.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.12-17

Участие авторов: концепция исследования – Филиппов А.Г., Московцев А.А.; постановка экспериментов – Филиппов А.Г., Синюкова Т.А.; обработка результатов, написание рукописи – все авторы.

Для корреспонденции: Московцев Алексей Александрович, e-mail: bioinf@mail.ru

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда научно-технологического развития Югры в рамках научного проекта № 2024–108–05.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 15.06.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Список сокращений PBS – фосфатно-солевой буфер; FSC и SSC – прямое и боковое светорассеяние, соответственно; ФИТЦ – флуоресцеинизотиоцианат; АТФ – аденоzinтрифосфат.

Filippov A.G.¹, Sinyukova T.A.², Moskovtsev A.A.¹**Erythrosomes: preparation and uptake by the endothelium *in vitro***¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8 Baltiyskaya St., Moscow, 125315, Russian Federation;² Surgut State University, 1 Prospekt Lenina, Surgut, 628412, Russian Federation

Introduction. Many human diseases are pathogenetically associated with endothelial dysfunction, which motivates the development of drugs that affect endothelial cells. To develop therapies targeted at the endothelium, it is proposed to use technologies of nanomedicine, specifically, the creation of nanoscale structures that deliver a drug to endothelial cells. Nanovesicles from human erythrocyte membranes are a promising candidate for the role of a non-toxic, biocompatible drug carrier in endothelial cells. The aim of the study was to develop a technology for obtaining nanoscale vesicles of human erythrocyte membranes loaded with a model compound and to study the absorption of the obtained vesicles by the endothelium in an *in vitro* model.

Method. Erythrocyte ghosts were obtained by hypotonic hemolysis and loaded with a membrane-impermeable fluorescent dye. Then the medium isotonicity was restored, nanoscale erythrocyte vesicles were obtained by ultrasonic homogenization and washed by dialysis or ultracentrifugation. The erythrosomes were characterized by photon correlation spectroscopy and inverted-contrast transmission electron microscopy. The erythrosome uptake by EA.Hy926 cells was studied using flow cytometry, and the erythrosome cytotoxicity was evaluated in a MTT test.

Results. Preparations of erythrosomes, nanoscale vesicles from erythrocyte ghosts, were obtained and characterized. It was shown that erythrosomes loaded with membrane-impermeable fluorescent dye were absorbed by human EA.Hy926 endothelial cells, that are considered an *in vitro* model of the endothelium. The transport of erythrosomes into endothelial cells was energy-dependent as it was blocked at 4°C. The erythrosomes had no cytotoxic effect.

Conclusion. A simple and technologically advanced method was developed for obtaining nanoscale vesicles loaded with a model compound and absorbed by endothelial cells from human erythrocyte membranes. Thus, the obtained erythrosomes are promising means for drug delivery to the endothelium.

Keywords: erythrosomes; red blood cells; endothelium; nanomedicine

For citation: Filippov A.G., Sinyukova T.A., Moskovtsev A.A. Erythrosomes – preparation and uptake by endothelium *in vitro*. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(3): 12–17. (in Russian)

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.12-17

Author's contribution: research concept – Filippov A.G., Moskovtsev A.A.; experiment design – Filippov A.G., Sinyukova T.A., results processing, writing the text – all authors.

For correspondence: Alexey. A. Moskovtsev, Head of the Cellular Stress laboratory, Russian Federation, 8, Baltiyskaya st., Moscow, 125315, e-mail: bioinf@mail.ru

Information about the authors:Moskovtsev A.A., <https://orcid.org/0000-0002-5648-824X>Sinyukova T.A., <https://orcid.org/0000-0001-6079-8841>

Financing. The reported study was funded by Foundation for Scientific and Technological Development of Yugra, project number № 2024-108-05.

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

Received 15.06.2025

Accepted 25.08.2025

Published 30.09.2025

Введение

Эндотелий сосудов можно рассматривать как один из крупнейших органов человека, дисфункция которого ассоциирована с рядом патологий и патологических состояний (диабет, курение, гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия, гипергомоцистинемия и др.). При ишемии, тромбозе, воспалении возникает задача доставки терапевтических и диагностических агентов к эндотелию, кроме того, нацеливание на эндотелий может обеспечить доставку препаратов в ткани через эндотелий посредством

трансцитоза [1]. Известные стратегии доставки в патологический эндотелий включают: липосомы; белковые коньюгаты, нацеленные на молекулы межклеточной адгезии; поверхностные рецепторы; ферменты [2]. Недавно было показано изменение поглощения активированными эндотелиоцитами HUVEC липосом, несущих углеводный лиганд Sialyl Lewis X к E-селектину, в зависимости от скорости потока в микрофлюидной модели «сосуда-на-чипе» [3], что указывает на важность не только нацеливания, но учета гидродинамических условий для обеспечения эффективного захвата липосом клетками.

Интересна возможность использовать в качестве контейнеров для лекарств собственные клетки организма, например, эритроциты [4]. Загрузка молекул препарата в эритроциты или иммобилизация на поверхности клеток обеспечивает длительную циркуляцию лекарства в крови, уменьшение частоты побочных эффектов [5]. Известны работы по загрузке в эритроциты кортикоэстериолов, кардиотоксичных антибиотиков, детоксицирующих ферментов [6]. При этом известно, что микрочастицы, отщепляемые эритроцитами пациентов с серповидно-клеточной анемией, способны поглощаться эндотелиальными клетками [7], что указывает на тропность эритроцитарных микрочастиц к эндотелию.

Целью настоящей работы является получение эритросом – наночастиц из замкнутых теней эритроцитов, загруженных модельным соединением, и оценка возможности использования эритросом в качестве средства доставки лекарств в эндотелий.

Методика

Получение эритросом. Эритросомы получали из свежей человеческой крови здоровых доноров. Кровь отбирали в цитратный буфер, центрифугированием осаждали эритроцитарную массу (200г, 10 мин, 4°C), которую ресуспензировали в холодном (4°C) однократном растворе фосфатно-солевого буфера (1X PBS) с 5 мМ глюкозы и повторно осаждали, затем повторяли промывку два раза. 0,5 мл суспензии эритроцитов вносили в 4 мл лизирующего буфера (1/5X PBS, 1 мМ MgCl₂, с/без 1 мМ CaCl₂, 4°C). Мембранные осаждали центрифугированием (800г, 10 мин, 4°C) и промывали лизирующим буфером три раза. Вносили кальцеин до конечной концентрации или ФИТЦ меченный диглицил-глицин до конечных концентраций 80 мкг/мл и 300 мкМ, соответственно, и запечатывали тени, восстанавливая изотоничность добавлением 8X PBS, с последующей инкубацией при 37°C в течение 0,5 ч. Затем суспензию теней обрабатывали на ультразвуковом гомогенизаторе Sonopuls (Bandelin electronics) при 50% мощности и длительности циклов 5×10% в течение 3×10 с и внешнем охлаждении (0°C) и подвергали диализу (порог отсечения 12 кДа) против двукратно сменяемого физиологического раствора при 4°C в течение 12 ч либо центрифugировали при 100 000г в течение 35 мин, а осадок ресуспензировали в 1 мл PBS и хранили при 4°C.

Распределение эритросом по размерам характеризовали методом фотонно-корреляционной спектроскопии (ZetaPALS, Brookhaven Instruments) и просвечивающей электронной микроскопии с обратным контрастом молибдатом аммония (LEO 912 AB OMEGA, Carl Zeiss, Germany).

Эксперименты на культуре клеток. Эксперименты проводились на клетках линии эндотелиоцитов ЕА.Ну926. Клетки линии ЕА.Ну926 культивировали в среде DMEM с 2 мМ L-глутамином, 5 мМ пируватом натрия, добавками НАТ, заменимых аминокислот (NEAA) и 10% эмбриональной сывороткой теленка в CO₂-инкубаторе (37°C, 5% CO₂). Для изучения поглощения эритросом эндотелиоцитами, в культуру клеток ЕА.Ну926 вносили препарат эритросом с разбавлением в 10 раз и инкубировали в течение 3 ч при 37°C в CO₂-инкубаторе, затем среду удаляли, промывали PBS, клетки снимали с подложки версен-трипсином, ресуспензировали в PBS и анализировали на проточном цитофлуориметре FACS Calibur (Becton Dickinson Ltd, США).

Оценку выживаемости в МТТ-тесте проводили в 96-луночном планшете после инкубации клеток в течение 12 или 24 ч с препаратом эритросом, внесенным с разбавлением в 10 и более раз. МТТ-краситель вносили до концентрации 0,5 мг/мл, инкубировали 4 ч, удаляли среду, растворяли осадок формазана в DMSO и измеряли оптическую плотность при $\lambda=544$ нм против 620 нм (Hidex Chameleon, Hidex Oy).

Результаты и обсуждение

Известны различные методы загрузки эритроцитов: электропорация, фармацевтически вызванный эндоцитоз, осмотический гемолиз и гипотонический гемолиз в различных модификациях [5]. Мы использовали гипотонический гемолиз, позволивший просто и технологично получать «тени» эритроцитов и загружать в них модельные соединения – мембранонепроницаемые флуоресцирующие красители. Эритросомы, полученные озвучиванием замкнутых теней эритроцитов, согласно данным фотонно-корреляционной спектроскопии имели средний размер 120 нм (**рис. 1**).

Для изучения поглощения эритросом эндотелиоцитами в качестве модели эндотелия *in vitro* была выбрана клеточная линия ЕА.Ну926 (гибридома клеток культуры эндотелиоцитов вен пупочного канатика HUVEC и клеток линии аденокарциномы легких А549) стабильно сохраняющая фенотип эндотелия в процессе культивирования [8]. Учитывая, что λ (max) экстинкции и эмиссии для кальцеина равны 470 и 509 (нм), соответственно, а для флуоресцеина 495 и 520 (нм), поглощение клетками эритросом, загруженных этими красителями, можно наблюдать на проточном цитофлуориметре с возбуждением синим лазером (488 нм) и детекцией на канале FL-1H (530±30 нм). Выделив гейт клеток в координатах FSC/SSC (**рис. 2, а/а**), получали гистограмму распределения числа клеток по интенсивности флуоресценции. Видно (**рис. 2, б/б**), что после прединкубации клеток с эритросомами загруженными

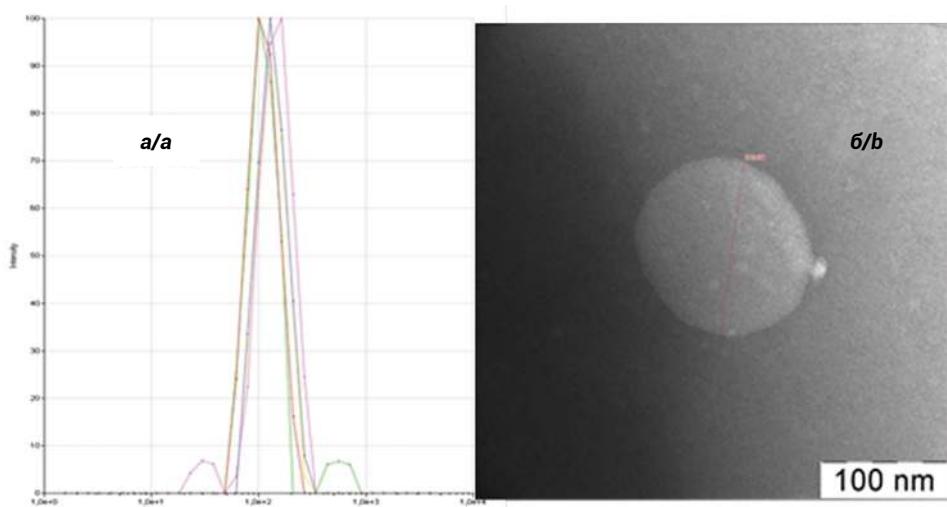


Рис. 1. Характеристика эритросом. а – Гистограмма распределения по размерам эритроцитарных наносом полученная методом фотонно-корреляционной спектроскопии. б – Электронно-микроскопическое изображение эритросомы с обратным контрастом молибдатом аммония.

Fig. 1. Characteristics of erythrosomes. a – Histogram of the size distribution of erythrocyte nanosomes obtained by photon correlation spectroscopy. b – Electron microscopic image of an erythrosome with reverse contrast with ammonium molybdate.

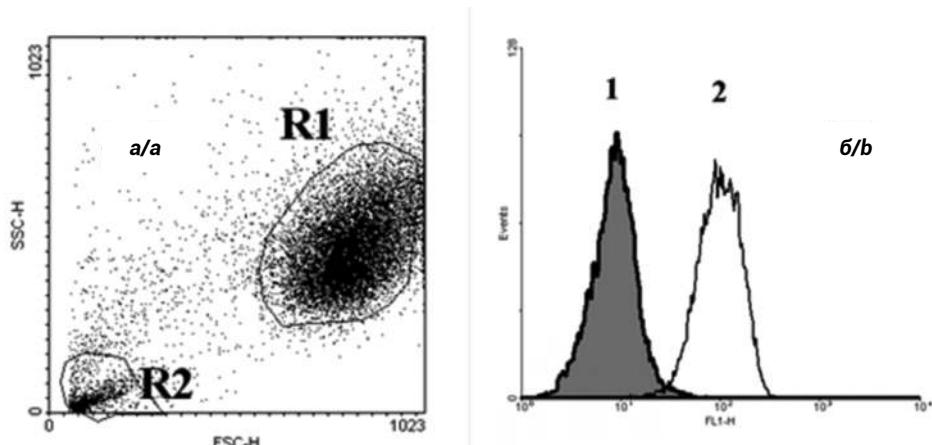


Рис. 2. Оценка интернализации эритросом клетками EA.Hy926. а – Типичная картина распределения суспензии клеток EA.Hy926 в координатах FSC/SSC: гейт R1 – клетки, гейт R2 – дебриз. б – Гистограммы гейта клеток инкубированных с эритросомами пустыми (1) и загруженными кальцеином (2) по каналу FL1-H.

Fig. 2. Evaluation of erythrosome internalization by EA.Hy926 cells. a – Typical distribution pattern of EA.Hy926 cell suspension in FSC/SSC coordinates: gate R1 – cells, gate R2 – debris. b – Gate histograms of cells incubated with empty (1) and calcein-loaded (2) erythrosomes in the FL1-H channel.

красителем, интенсивность флуоресценции клеток резко возрастила по сравнению с автофлуоресценцией в контроле (наблюдалось смещение пика на гистограмме вправо, свидетельствующее об усилении флуоресценции клеток вследствие поглощения флуоресцирующего красителя). Чтобы гарантировать отсутствие в препарате эритросом незагруженного красителя, эритросомы очищали двумя различными способами: ультрацентрифугированием или диализом. Способ очистки не влиял на наблюдаемый эф-

фект поглощения. Также не было замечено значимых отличий в поглощении эритросом, приготовленных с/без добавок ионов кальция (1 мМ).

Можно предположить различные механизмы поглощения эритросом. Для их дискриминации был поставлен эксперимент по инкубации эритросом с эндотелиоцитами при 4°C, а также с эндотелиоцитами после прединкубации клеток с гепарином (10 мкг/мл) или хлорохином (200 мМ). Из **рис. 3, а/а** видно, что при 4°C эритросомы

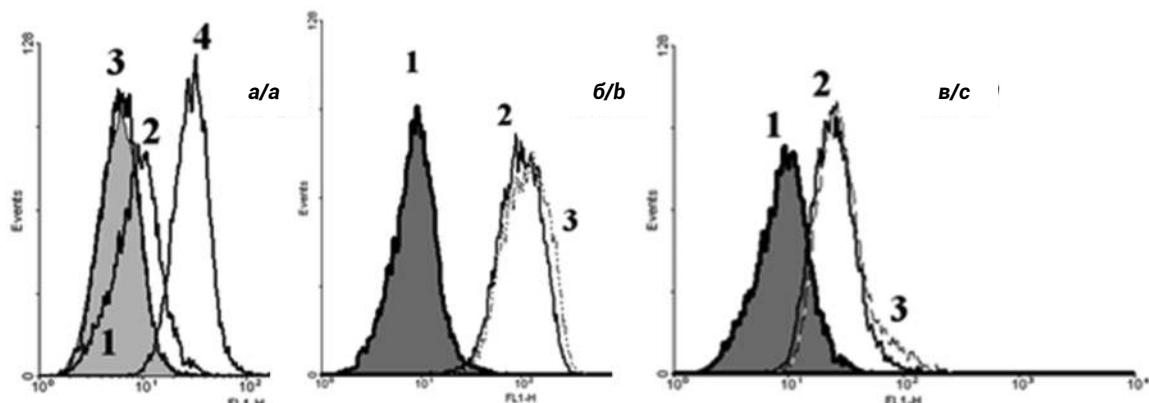


Рис. 3. Эффекты ингибиторов эндоцитоза на поглощение эритросом. *а* – Гистограммы гейта клеток EA.Hy926 инкубированных с пустыми эритросомами при 4°C (1), при 37°C (2) и загруженными флуоресцеином диглицилглицином при 4°C (3), при 37°C (4) по каналу FL1-H. *б* – Гистограммы гейта клеток интактных (1), без прединкубации с гепарином (2) и после прединкубации с гепарином (3) по каналу FL1-H инкубированных с эритросомами загруженными кальцеином. *в* – Гистограммы гейта клеток интактных (1), без прединкубации с хлорохином (2) и после прединкубации с хлорохином (3) канала FL1-H инкубированных с эритросомами загруженными флуоресцеиндиглицилглицином.

Fig. 3. Effects of endocytosis inhibitors on erythrosome uptake. *a* – Gate histograms of EA.Hy926 cells incubated with empty erythrosomes at 4°C (1), at 37°C (2) and loaded with fluorescein diglycylglycine at 4°C (3), at 37°C (4) via the FL1-H channel. *b* – Gate histograms of intact cells (1), without preincubation with heparin (2) and after preincubation with heparin (3) via the FL1-H channel incubated with erythrosomes loaded with calcein. *c* – Histograms of the gate of intact (1), without preincubation with chloroquine (2) and after preincubation with chloroquine (3) cells in the FL1-H channel incubated with erythrosomes loaded with fluorescein diglycylglycine.

не поглощались клетками, т.к. интенсивность флуоресценции клеток, инкубированных с эритросомами, не отличалась от автофлуоресценции контрольных (автофлуоресценция в контроле при 4°C несколько ниже контрольной при 37°C). Ингибирующее действие холода на поглощение эритросом указывает на то, что этот процесс является энергозависимым, и подавление продукции АТФ блокирует транспорт эритросом. Прединкубация клеток с гепарином (рис. 3, б/б) или хлорохином (рис. 3, в/в) не ингибировала поглощение эритросом. Хлорохин ингибирует клатрин-зависимый транспорт [9], а гепарин – ингибирует связывание с рецепторами, ассоциированными с гепарин сульфат протеогликаном; известно ингибирование эндоцитоза экзосом опухолевых клеток гепарином [10]. Можно говорить об отсутствии вовлеченности этих процессов в поглощение эритросом.

В работе [7] было показано, что микрочастицы, отщепляемые эритроцитами пациентов с серповидно-клеточной анемией, способны вызывать окислительный стресс и апоптоз в эндотелиальных клетках, вероятно играя роль в патогенезе атеросклероза. Эффект связывают с наличием в микрочастицах эритроцитов гемоглобина и высвобождаемых из него гемина и ионов железа, способных катализировать реакции образования активных форм кислорода и окисленных липидов. Нами не было обнаружено статистически значимого токсического действия эритросом на клетки культуры EA.Hy926 в MTT-тесте при продол-

жительности инкубации 12 ч и 24 ч. Отсутствие токсичности эритросом можно объяснить отсутствием гемоглобина, удаленного из эритроцитарных теней при отмыке, и использованием для получения эритросом свежих донорских эритроцитов, не подвергшихся старению в процессе хранения.

Заключение

С помощью сравнительно простого и технологичного метода были получены и загружены модельным соединением наноразмерные эритросомы, способные поглощаться эндотелиальными клетками *in vitro*. Это позволяет рассматривать эритросомы как перспективные нетоксичные биосовместимые средства доставки лекарственных препаратов в эндотелий.

Литература/ References

1. Oh P, Borgström P, Witkiewicz H, Li Y, Borgström B.J., Chrastina A., et al. Live dynamic imaging of caveolae pumping targeted antibody rapidly and specifically across endothelium in the lung. *Nat Biotechnol.* 2007; 25(3): 327–37. <https://doi.org/10.1038/NBT1292>
2. Muzykantov V.R. Targeted Drug Delivery to Endothelial Adhesion Molecules. *Int Sch Res Notices.* 2013; 2013: 916254. <https://doi.org/10.1155/2013/916254>
3. Onishchenko N.R., Moskovtsev A.M., Kobanenko M.K., Tretiakova D.S., Alekseeva A.S., Kolesov D.V. Protein Corona Attenuates the Targeting of Antitumor Sialyl Lewis X-Decorated Liposomes to Vascular Endothelial Cells under Flow Conditions.

- Pharmaceutics.* 2023; 15: 1754. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061754>
4. Tan S., Wu T., Zhang D., Zhang Z. Cell or cell membrane-based drug delivery systems. *Theranostics.* 2015; 5(8): 863–81. <https://doi.org/10.7150/THNO.11852>
 5. Sarbash V.I., Tikhonova A.G., Vuymo T.A., Derbov A.L., Aleksandrovich Yu. G., Butylin A.A., et al. Red blood cells are drug carriers. *Ros Khim Zh.* 2007; 51(1): 143–9.
 6. Muzykantov V.R. Drug delivery by red blood cells: vascular carriers designed by mother nature. *Expert Opin Drug Deliv.* 2010; 7(4): 403–27. <https://doi.org/10.1517/17425241003610633>
 7. Camus S.M., De Moraes J.A., Bonnin P., Abbyad P., Le Jeune S., Lionnet F., et al. Circulating cell membrane microparticles transfer heme to endothelial cells and trigger vasoocclusions in sickle cell disease. *Blood.* 2015; 125(24): 3805–14. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2014-07-589283>
 8. Bouïs D., Hospers G.A.P., Meijer C., Molema G., Mulder N.H. Endothelium in vitro: a review of human vascular endothelial cell lines for blood vessel-related research. *Angiogenesis.* 2001; 4: 91–102. <https://doi.org/10.1023/A:1012259529167>
 9. Wolfram J., Nizzero S., Liu H., Li F., Zhang G., Li Z., et al. A chloroquine-induced macrophage-preconditioning strategy for improved nanodelivery. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 13738. <https://doi.org/10.1038/S41598-017-14221-2>
 10. Christianson H.C., Svensson K.J., Van Kuppevelt T.H., Li J.P., Belting M. Cancer cell exosomes depend on cell-surface heparan sulfate proteoglycans for their internalization and functional activity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110(43): 17380–5. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1304266110>

Сведения об авторах:

Филиппов Александр Геннадиевич, науч. сотр. лаб. клеточного стресса ФГБНУ «НИИОПП», algf@yandex.ru;

Синюкова Татьяна Александровна, вед. науч. сотр. научно-образовательного центра, доцент каф. патофизиологии и общей патологии Медицинского института Бюджетного учреждения высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет»;

Московцев Алексей Александрович, канд. мед. наук, вед. науч. сотр., зав. лаб. клеточного стресса ФГБНУ «НИИОПП»
e-mail: bioinf@mail.ru

Крюкова В.В., Цепелев В.Л., Терешков П.П.

Изменения субпопуляционного состава инфильтрирующих опухоль цитотоксических Т-лимфоцитов и экспрессии ко-ингибирующих молекул на их поверхности при колоректальном раке III стадии

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

Актуальность. Исследование субпопуляционного состава цитотоксических Т-лимфоцитов и экспрессии на их поверхности ко-ингибирующих белков в микроокружении опухоли необходимо для разработки новых методов таргетной терапии колоректального рака (КРР). **Цель** – изучение субпопуляционного состава цитотоксических Т-лимфоцитов и экспрессии на их поверхности ко-ингибирующих молекул в первичном очаге опухолевого роста у больных раком толстой кишки III стадии.

Методика. Методом проточной цитометрии изучено относительное содержание цитотоксических Т-лимфоцитов опухолевого микроокружения, субпопуляционный состав цитотоксических Т-лимфоцитов, а также экспрессия CD8-позитивными клетками иммунных контрольных точек (CTLA-4, PD-1, TIM-3) у 105 больных КРР III стадии. Контрольную группу составили 75 пациентов, которым выполнена операция на толстой кишке по поводу неопухолевых заболеваний.

Результаты. У больных КРР III стадии в первичном очаге опухолевого роста в 1,3 раза снижается доля наивных клеток ($CD3^+CD8^+CD45RA^+CCR7^+$), возрастает относительное содержание цитотоксических Т-лимфоцитов центральной памяти ($CD3^+CD8^+CD45RA^-CCR7^+$) и эффекторной памяти ($CD3^+CD8^+CD45RA^-CCR7^+$) в 1,5 и 1,4 раза соответственно, а также уменьшается количество терминально-дифференцированных Т-клеток ($CD3^+CD8^+CD45RA^+CCR7^+$). У пациентов с КРР на поверхности $CD3^+CD8^+$ лимфоцитов в микроокружении опухоли в 1,9 раза возрастает экспрессия CD57, в 1,9 раза – ко-ингибирующей молекулы CTLA-4 и в 2,5 раза – белка TIM-3.

Заключение. У больных КРР III стадии изменяется субпопуляционный состав инфильтрирующих опухоль цитотоксических Т-лимфоцитов, что выражается в уменьшении доли наивных и терминально-дифференцированных Т-клеток с одновременным увеличением процентного содержания клеток центральной и эффекторной памяти. При КРР III стадии увеличивается экспрессия ко-ингибирующих молекул (CTLA-4 и TIM-3) на цитотоксических Т-лимфоцитах опухолевого микроокружения.

Ключевые слова: колоректальный рак; цитотоксические Т-лимфоциты; иммунные контрольные точки

Для цитирования: Крюкова В.В., Цепелев В.Л., Терешков П.П. Изменения субпопуляционного состава инфильтрирующих опухоль цитотоксических Т-лимфоцитов и экспрессии ко-ингибирующих молекул на их поверхности при колоректальном раке III стадии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2025; 69(3): 18–24.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.18-24

Участие авторов: разработка концепции и дизайна исследования – Крюкова В.В.; сбор данных, проведение цитологического исследования, анализ и интерпретация данных – Терешков П.П., Крюкова В.В.; статистическая обработка материала, анализ литературы по теме исследования, написание текста статьи – Крюкова В.В., Цепелев В.Л.; научное редактирование, техническое редактирование – Цепелев В.Л. Утверждение окончательного текста статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Цепелев Виктор Львович, e-mail: viktorsepelev@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава РФ в рамках утвержденного плана НИР.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 22.01.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Kryukova V.V., Tsepelev V.L., Tereshkov P.P.

Changes in the subpopulation composition of tumor-infiltrating cytotoxic T-lymphocytes and the expression of co-inhibitory molecules on their surface in stage III colorectal cancer

Chita State Medical Academy, 39A Gorky St., Chita, 672000, Zabaikalsky Krai, Russian Federation

Relevance: Studying the subpopulation composition of cytotoxic T-lymphocytes and the expression of co-inhibitory proteins on their surface in the tumor microenvironment is necessary for the development of new methods of targeted therapy for colorectal cancer (CRC).

Aim: To study the subpopulation composition of cytotoxic T-lymphocytes and the expression of co-inhibitory molecules on their surface in the primary tumor growth site in patients with stage III colon cancer.

Methods. The relative content of cytotoxic T-lymphocytes in the tumor microenvironment, the subpopulation composition of cytotoxic T-lymphocytes, as well as the expression of immune checkpoints (CTLA-4, PD-1, TIM-3) by CD8-positive cells were measured in 105 patients with stage III CRC by flow cytometry. The control group consisted of 75 patients who underwent colon surgery for non-neoplastic diseases.

Results. In patients with stage III CRC, the proportion of naive cells (CD3+CD8+CD45RA+CCR7+) in the primary tumor growth site was decreased by 23.1%; the relative content of cytotoxic T-lymphocytes of central memory (CD3+CD8+C-D45RA-CCR7+) and effector memory (CD3+CD8+CD45RA-CCR7-) was increased by 1.5 and 1.4 times, respectively; and the number of terminally differentiated T-cells (CD3+CD8+CD45RA+CCR7-) was decreased. In CRC patients, on the surface of CD3+CD8+ lymphocytes in the tumor microenvironment, the expression of CD57 was increased by 1.9 times, the co-inhibitory CTLA-4 molecule by 1.9 times, and the TIM-3 protein by 2.5 times.

Conclusion. In patients with stage III CRC, the subpopulation composition of tumor-infiltrating cytotoxic T lymphocytes changes, which is evident as a decreased proportion of naive and terminally differentiated T cells along with an increase in the percentage of central and effector memory cells. In stage III CRC, the expression of co-inhibitory molecules (CTLA-4 and TIM-3) on cytotoxic T lymphocytes of the tumor microenvironment increases.

Keywords: colorectal cancer; cytotoxic T-lymphocytes; immune checkpoints

For citation: Kryukova V.V., Tsepelev V.L., Tereshkov P.P. Changes in the subpopulation composition of tumor-infiltrating cytotoxic T-lymphocytes and the expression of co-inhibitory molecules on their surface in stage III colorectal cancer. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(3): 18–24. (in Russian)

DOI: 0031-2991.2025.03.18-24

Author's contribution: development of the concept and design of the study – Kryukova V.V.; data collection, conducting cytological examination, analysis and interpretation of data – Tereshkov P.P., Kryukova V.V.; statistical processing of the material, analysis of literature on the topic of the study, writing the text – Kryukova V.V., Tsepelev V.L.; scientific editing, technical editing – Tsepelev V.L. Approval of the final text of the article – all authors.

For correspondence: Viktor L. Tsepelev, e-mail: viktorcepelev@mail.ru

Information about the authors:

Kryukova V.V., <https://orcid.org/0009-0008-2228-3351>
 Tsepelev V.L., <https://orcid.org/0000-0002-2166-5154>
 Tereshkov P.P., <https://orcid.org/0000-0002-8601-3499>

Financing. The work was carried out with the financial support of the Chita State Medical Academy within the framework of the approved research plan.

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

Received 22.01.2025

Accepted 25.08.2025

Published 30.09.2025

Введение

Колоректальный рак (КРР) является одной из наиболее часто встречающихся форм злокачественных новообразований. Несмотря на достигнутые успехи в комплексном лечении КРР, показатели пятилетней выживаемости сохраняются на низком уровне [1]. Наиболее перспективным направлением лечения данной категории больных является таргетная иммунотерапия, основанная

на применении ингибиторов иммунных контрольных точек (ИКТ). Последние представляют собой ко-ингибирующие молекулы, которые в физиологических условиях являются отрицательными регуляторами иммунной системы, не позволяющими развиваться аутоиммунным заболеваниям [2]. Основными ИКТ являются: CTLA-4, PD-1 и TIM-3. Злокачественные клетки способны использовать ИКТ с целью «ускользания от иммунного ответа». Ранее нами было установлено, что в опухолевой ткани и крови

увеличивается концентрация растворимой формы ингибирующих молекул (LAG-3, TIM-3, CTLA-4), а также их лигандов, что свидетельствует об участии последних в патогенезе КРР [3, 4]. Данные исследования требуют дальнейшего продолжения в плане изучения экспрессии ИКТ на иммунных клетках. В настоящее время недостаточно изучена экспрессия ко-ингибирующих белков на поверхности цитотоксических Т-лимфоцитов опухолевого микропокружения при КРР. Эти исследования необходимы для понимания патогенеза рака толстой кишки, механизмов развития опухолевой иммуносупрессии при КРР, а также для определения стратегии таргетной иммунотерапии.

Наиболее перспективной мишенью для иммунотерапии являются цитотоксические Т-лимфоциты, которые играют ведущую роль в механизмах онкорезистентности. Современные стратегии иммунотерапии рака направлены на повышение функциональной активности данных клеток и усиление адаптивного иммунного ответа на онкоантигены [5]. В настоящее время недостаточно изучены вопросы антигензависимой дифференцировки данных клеток при КРР. Цитотоксические Т-лимфоциты представляют собой гетерогенную популяцию, включающую наивные клетки, лимфоциты центральной и эффекторной памяти, терминально-дифференцированные CD45RA-позитивные Т-клетки (TEMRA). В процессе антигензависимой дифференцировки при злокачественных новообразованиях в крови увеличивается количество эффекторных клеток и клеток памяти [6]. Между тем, данных по субпопуляционному составу инфильтрирующих опухоль цитотоксических Т-лимфоцитов недостаточно. Генерация, дифференцировка и поддержание инфильтрирующих опухоль Т-клеток памяти в функционально оптимальном состоянии имеет решающее значение в формировании противоопухолевого иммунитета. Данные исследования необходимы для понимания механизмов развития опухолевой иммуносупрессии при КРР.

Цель работы – изучение субпопуляционного состава цитотоксических Т-лимфоцитов и экспрессии на их поверхности ко-ингибирующих молекул в первичном очаге опухолевого роста у больных раком толстой кишки III стадии.

Методика

Под нашим наблюдением находилось 105 больных КРР III стадии, из них у 93 (88,6%) был рак ободочной кишки, у 12 (11,4%) – прямой кишки. Во всех случаях опухоль была представлена adenокарциномой. Критерии включения: диагностированный и морфологически верифицированный колоректальный рак, первичный статус заболевания. Критерии исключения: больные, получавшие химио- или лучевую терапию; аутоиммунные, ин-

фекционные заболевания; хронические воспалительные заболевания толстой кишки. Возраст пациентов основной группы составил 64,0 [56,0; 69,5] лет. В основной группе было 66 (62,9%) женщин и 39 (37,1%) мужчин. Контрольную группу составили 75 больных, которым выполнена операция на толстой кишке по поводу неопухолевых заболеваний. Возраст обследуемых контрольной группы составил 62,0 [50,0; 68,0] лет. В контрольной группе было 47 (62,7%) женщин и 28 (37,3%) мужчин. Основная и контрольная группа больных сопоставима по полу ($\chi^2=0,001, p=0,979$) и возрасту ($U=3448,0, p=0,155$).

Фрагменты опухолевой ткани, полученной во время оперативного вмешательства, гомогенизировали с применением реагентов TumorDissociationKit на гомогенизаторе GentleMACS Dissociator (Германия). Для получения суспензии клеток применяли капроновый фильтр 70 мкм (Miltenyi BiotecGmbH, Германия). Все исследования проводили в течение 6 часов после забора материала.

Исследование субпопуляций цитотоксических Т-лимфоцитов осуществляли методом проточной цитометрии. Для этого использовали антитела против CD45 (клон J33); CD3 (клон UCHT1); CD8 (клон RPA-T8); CD45RA (клон 2H4LDH11LDB9) и CCR7 (клон G043H7). Распределение антител по каналам флуоресценции проводили в соответствии с принципами формирования панелей для многоцветных цитофлуориметрических исследований [7]. Протоколы окрашивания выполняли в соответствии с рекомендациями производителя. Суспензию выделенных клеток в объеме 100 мкл окрашивали вышеуказанными антителами при комнатной температуре в течение 15 мин в темноте. После окрашивания антителами эритроциты лизировали, промывали дважды стерильным PBS с использованием реактивов Beckman Coulter, США. Далее все образцы подвергли анализу на проточном цитометре CytoFLEX LX (Beckman Coulter, США). Из каждого образца собирали не менее 50000 клеток CD3+ для оценки иммунных клеток. Обработку данных выполняли при помощи программ CytExpert software v.2.0 и Kaluza™ v.2.1.1 (США).

Определяли количество инфильтрирующих опухоль цитотоксических Т-лимфоцитов, экспрессирующих белки: CTLA-4 (CD152), PD-1 (CD279), Tim-3 (CD366) и CD57 методом проточной цитометрии. Для этого применяли моноклональные антитела против: CD152 (клон BNI3), CD279 (клон EH12.2H7), CD366 (клон A18087E) и CD57 (клон NC1).

Полученные данные представляли в виде медианы, первого и третьего квартилей. Попарное сравнение показателей основной и контрольной групп проводили с помощью критерия Манна-Уитни, поскольку в исследуемых группах наблюдалось распределение признаков отлич-

ное от нормального [8]. Статистическую обработку проводили с использованием программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (США).

Результаты

Нами установлено, что у больных КРР III стадии в 1,2 раза увеличивается относительное содержание общей популяции лимфоцитов в первичном очаге опухолевого роста (26,9 [21,7; 32,6] % – в группе контроля и 32,4 [22,1; 42,9] % – у пациентов с КРР, $p=0,005$). У больных КРР III стадии не изменяется относительное содержание инфильтрирующих опухоль цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD3^+CD8^+$) по сравнению с группой контроля (табл. 1). Между тем, в опухолевом микроокружении происходят структурные изменения субпопуляционного состава данных иммунных клеток в зависимости от степени дифференцировки. Так, в 1,3 раза уменьшается количество наивных $CD8^+$ лимфоцитов по отношению к группе контроля, относительное содержание клеток центральной памяти ($CD3^+CD8^+CD45RA^+CCR7^+$) увеличивается в 1,5 раза, цитотоксических Т-лимфоцитов эффекторной памяти – в 1,4 раза. Одновременно с этим, в первичном очаге опухолевого роста при раке толстой кишки III стадии в 1,3 раза снижается относительное количество терминально-дифференцированных Т-клеток ($CD8^+TEMRA$) ($CD3^+CD8^+CD45RA^+CCR7^+$) (табл. 1). У больных КРР III стадии в первичном очаге опухолевого роста в 1,9 раза увеличивается относительное содержание $CD8^+$ -позитивных клеток, экспрессирующих на своей поверхности CD57.

Установлено, что у больных КРР III стадии среди изученных иммунных контрольных точек, наибольший вклад в формирование опухолевой иммуносупрессии на уровне функционирования цитотоксических Т-лимфоцитов вносит цитотоксический Т-лимфоцитарно-ассоциированный белок (CTLA-4) (табл. 2). Так, у больных раком толстой кишки в очаге первичного опухолевого роста в 1,9 раза увеличивается относительное содержание $CD8^+$ -позитивных Т-лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности CTLA-4. Одновременно с этим, в 2,5 раза увеличивалась экспрессия ко-ингибирующей молекулы TIM-3 на цитотоксических Т-лимфоцитах в опухолевой ткани. Статистически значимых различий уровня экспрессии иммунной контрольной точки PD-1 цитотоксическими Т-лимфоцитами в первичном очаге опухолевого роста у пациентов с КРР III стадии и контрольной группе не обнаружено (табл. 2).

Обсуждение

Наши исследования показали, что у больных КРР III стадии в первичном очаге опухолевого роста не изменяется относительное содержание цитотоксических Т-лимфоцитов по сравнению с группой контроля. При изучении субпопуляций цитотоксических Т-лимфоцитов в опухолевом микроокружении установлено, что при КРР происходит уменьшение доли наивных клеток. Последние представляют собой популяцию клеток, не прошедших этап антиген-зависимой дифференцировки. Особенностью наивных Т-лимфоцитов является экспрессия на своей поверхности CD45RA, CD62L и CD197 (или CCR7), способ-

Таблица 1/Table 1

Цитотоксические Т-лимфоциты в первичном очаге опухолевого роста у больных колоректальным раком, Me [Q_1 ; Q_3]
Cytotoxic T-lymphocytes in the primary tumor growth site in patients with colorectal cancer, Me [Q_1 ; Q_3]

Субпопуляции цитотоксических Т-лимфоцитов Subpopulations of cytotoxic T-lymphocytes, %	Группа контроля Control group, $n=75$	Колоректальный рак Colorectal cancer, $n=105$	Тестовая статистика Test statistics	
			U Манна–Уитни / U Mann–Whitney	Значение p / p -value
Цитотоксические Т-лимфоциты ($CD3^+CD8^+$) Cytotoxic T-lymphocytes ($CD3^+CD8^+$)	28,3 [14,5; 39,8]	27,5 [18,7; 39,0]	3775,5	0,638
$CD8^+Naïve$ ($CD3^+CD8^+CD45RA^+CCR7^+$)	6,1 [3,2; 7,7]	4,7 [3,1; 6,6]	3202,0	0,033
$CD8^+CM$ ($CD3^+CD8^+CD45RA^+CCR7^+$)	5,5 [2,6; 8,2]	8,4 [4,8; 13,8]	2352,0	<0,001
$CD8^+EM$ ($CD3^+CD8^+CD45RA^+CCR7^+$)	26,7 [16,1; 37,1]	36,6 [19,6; 46,7]	2817,5	0,001
$CD8^+TEMRA$ ($CD3^+CD8^+CD45RA^+CCR7^+$)	64,4 [46,0; 76,3]	49,5 [40,3; 63,4]	2565,0	<0,001
$CD8^+CD57^+$	25,3 [18,0; 42,1]	48,2 [33,6; 59,1]	1587,5	<0,001

Примечание. Naive – наивные Т-клетки, CM – Т-клетки центральной памяти, EM – Т-клетки эффекторной памяти, TEMRA – терминально-дифференцированные Т-клетки, U – критерий Манна–Уитни, p – уровень значимости различий показателей больных КРР и контрольной группы.

Note. Naive – naive T-cells, CM – central memory T-cells, EM – effector memory T-cells, TEMRA – terminally differentiated T-cells, U – Mann–Whitney test, p – significance level of differences in parameters of CRC patients and the control group.

Таблица 2/Table 2

Экспрессия иммунных контрольных точек цитотоксическими Т-лимфоцитами в первичном очаге опухолевого роста у больных колоректальным раком, Me [Q₁; Q₃]

Expression of immune checkpoints by cytotoxic T-lymphocytes in the primary tumor growth site in patients with colorectal cancer, Me [Q₁; Q₃]

Субпопуляции цитотоксических Т-лимфоцитов Subpopulations of cytotoxic T-lymphocytes, %	Группа контроля Control group, n=75	Колоректальный рак Colorectal cancer, n=105	Тестовая статистика / Test statistics	
			U Манна–Уитни U Mann–Whitney	Значение p p-value
CD8 ⁺ CTLA-4 ⁺	8,6 [3,9; 13,3]	16,3 [13,1; 24,1]	1211,5	<0,001
CD8 ⁺ PD-1 ⁺	32,5 [17,2; 43,4]	29,0 [16,5; 39,9]	3673,0	0,443
CD8 ⁺ TIM-3 ⁺	2,8 [1,0; 4,3]	7,1 [3,7; 10,1]	1316,0	<0,001

Примечание. U – критерий Манна–Уитни, p – уровень значимости различий показателей больных КРР и контрольной группы.

Note. U – Mann–Whitney test, p – significance level of differences in parameters of CRC patients and the control group.

ствующих миграции этих клеток в лимфатические узлы. На поверхности наивных клеток зарегистрирована высокая экспрессия ко-стимулирующих белков, в частности CD28 [9]. Данный тип клеток синтезирует интерлейкин-2.

Одновременно с уменьшением количества наивных клеток нами зарегистрировано увеличение относительного содержания цитотоксических Т-лимфоцитов центральной и эффекторной памяти. Следует отметить, что по мере дифференцировки CD8-позитивные клетки изменяют не только фенотип, но и свои функциональные характеристики [10]. Т-клетки центральной памяти (СМ) экспрессируют CD45R0, CD62L, CD27, CD28. Данные клетки прошли антигензависимую дифференцировку, и они обладают способностью длительно циркулировать в организме [6].

Т-клетки эффекторной памяти (ЕМ) имеют фенотип CD45RA⁻CD45R0⁺CD62L⁻CCR7⁻. По сравнению с клетками СМ, данный тип лимфоцитов секretирует ряд цитокинов, определяющих онкорезистентность и противоопухолевый иммунитет (IFN γ и IL-4). Важнейшим отличием клеток эффекторной памяти является высокий уровень экспрессии адгезионных молекул, а также рецепторов для провоспалительных хемокинов, способствующих миграции данных клеток в первичный очаг опухолевого роста [11]. Терминально-дифференцированные CD45RA-позитивные Т-клетки (TEMRA) (CD45RA⁺CD45R0⁻CD62L⁻CCR7⁻) являются финальной стадией созревания Т-лимфоцитов. Они обладают низкой пролиферативной активностью, но в то же время обладают повышенной способностью к синтезу ряда эффекторных молекул, определяющих силу противоопухолевого иммунного ответа [6].

Более того, результаты наших исследований показали, что в очаге злокачественного роста при КР уменьшается количество терминально-дифференцированных Т-клеток (CD3⁺CD8⁺CD45RA⁺CCR7⁻). Этот феномен, ве-

роятно, связан с истощением и апоптозом данного типа клеток в очаге опухолевого роста.

До настоящего времени недостаточно изучены цитотоксические Т-лимфоциты опухолевого микроокружения, экспрессирующие CD57. Нами получены интересные данные, свидетельствующие о повышении экспрессии CD57 на CD8-позитивных клетках. Роль CD8⁺CD57⁺ лимфоцитов в патогенезе КРР требует дальнейшего изучения. Между тем, уже в настоящее время известно, что Т-клетки CD57⁺ PD-1⁻ CD8⁺ секрецируют перфорин и гранзины, являющиеся ключевым фактором киллинга злокачественных клеток [12].

Проведенные исследования показали, что у больных КРР III стадии в 1,9 раза увеличивается экспрессия ко-ингибирующего белка CTLA-4 на инфильтрирующих опухоль цитотоксических Т-лимфоцитах. Цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген 4 (CTLA-4, CD152) является ко-ингибирующим белком, инициация экспрессии которого происходит после активации Т-лимфоцитов. К молекуле CTLA-4 существует 2 лиганда: B7-1 (CD80) и B7-2 (CD86), которые находятся на поверхности антигенпрезентирующих клеток [13]. Основная функция данного белка заключается в подавлении пролиферации Т-лимфоцитов, которая происходит после взаимодействия CD80 или CD86 с CTLA-4. Полученные данные свидетельствуют о том, что ко-ингибирующая молекула CTLA-4 вносит вклад в формирование опухолевой иммуносупрессии у больных КРР на уровне функционирования CD8-позитивных лимфоцитов.

Нами установлено, что на инфильтрирующих опухоль цитотоксических Т-лимфоцитах у больных КРР III стадии в 2,5 раза возрастает экспрессия мембранных белка TIM-3 (T-cell immunoglobulin and mucin domain-3). Данная ко-ингибирующая молекула также экспрессируется на различных иммунных клетках: регуляторных Т-клет-

ках, естественных киллерах, дендритных клетках [14]. Лиганд молекулы TIM-3 – Galectin-9 экспрессируется на злокачественных клетках. Механизм, посредством которого TIM-3 способствует дисфункции CD8-позитивных клеток, до конца не известен. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что точкой приложения молекулы TIM-3 в опухолевом микроокружении больных раком толстой кишки являются цитотоксические Т-лимфоциты.

Нами не установлено статистически значимых различий уровня экспрессии молекулы PD-1 цитотоксическими Т-лимфоцитами у данной категории пациентов. Таким образом, наибольший вклад в формирование опухолевой иммуносупрессии у больных КРР III стадии на уровне функционирования инфильтрирующих опухоль Т-лимфоцитов вносят ко-ингибирующие белки CTLA-4 и TIM-3. Полученные результаты имеют важное практическое значение, с одной стороны, для понимания механизмов развития опухолевой иммуносупрессии, с другой стороны – для определения стратегии таргетной иммунотерапии больных с КРР, основанной на использовании моноклональных антител к указанным ко-ингибирующим белкам.

Выводы

В первичном очаге опухолевого роста при КРР III стадии изменяется субпопуляционный состав цитотоксических Т-лимфоцитов, что выражается в уменьшении доли наивных клеток и терминально-дифференцированных Т-клеток с одновременным увеличением процентного содержания клеток центральной и эффекторной памяти. У больных с КРР увеличивается относительное содержание в опухолевой ткани цитотоксических Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD57.

У больных КРР III стадии увеличивается экспрессия ко-ингибирующих молекул (CTLA-4 и TIM-3) на цитотоксических Т-лимфоцитах опухолевого микроокружения.

Литература

(п.п. 1; 2; 5; 6; 9; 11-14 см. References)

3. Четверяков А.В., Цепелев В.Л. Уровень ко-ингибирующих иммунных контрольных точек в ткани опухоли у пациентов с новообразованиями толстой кишки. *Молекулярная медицина*. 2023; 21(1): 56-60. <https://doi.org/10.29296/24999490-2023-01-08>
4. Четверяков А.В., Цепелев В.Л. Концентрация ко-ингибирующих иммунных контрольных точек и их лигандов в крови у пациентов с опухолью толстой кишки. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2023; 67(1): 56-62. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.01.56-62>
7. Серебрякова М.К., Ильвес А.Г., Лебедев В.М., Новоселова О.М., Прахова Л.Н., Кудрявцев И.В. Субпопуляционный состав цитотоксических Т-лимфоцитов периферической крови и спинномозговой жидкости при рассеянном склерозе. *Российский иммунологический журнал*. 2023; 26(2): 149-60. <https://doi.org/10.46235/1028-7221-1533-CTC>
8. Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа количественных признаков в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020; 1: 140-50.
10. Новик А.В., Кудрявцев И.В., Нехаева Т.Л., Емельянова Н.В., Данилова А.Б., Ефремова Н.А. и др. Прогностическое и предиктивное значение Т-клеток памяти в периферической крови у больных неоперабельной или метастатической меланомой. *Эффективная фармакотерапия*. 2021; 17(11): 10-4. <https://doi.org/10.33978/2307-3586-2021-17-11-10-14>

References

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021; 71(3): 209-49. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
2. Shiravand Y., Khodadadi F., Kashani S.M.A., Hosseini-Fard S.R., Hosseini S., Sadeghirad H., et al. Immune checkpoint inhibitors in cancer therapy. *Current Oncology*. 2022; 29(5): 3044-3060. <https://doi.org/10.3390/curroncol29050247>
3. Chetverjakov A.V., Tsepelev V.L. Level of co-inhibitory immune checkpoints in tumor tissue in patients with colon neoplasms. *Molekulyarnaya meditsina*. 2023; 21(1): 56-60. <https://doi.org/10.29296/24999490-2023-01-08> (in Russian)
4. Chetverjakov A.V., Tsepelev V.L. Concentration of co-inhibitory immune checkpoints and their ligands in the blood of patients with colon tumor. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2023; 67(1): 56-62. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.01.56-62> (in Russian)
5. Zheng Z., Wieder T., Mauerer B., Schäfer L., Kesselring R., Braumüller H. T Cells in Colorectal Cancer: Unravelling the Function of Different T Cell Subsets in the Tumor Microenvironment. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(14): 11673. <https://doi.org/10.3390/ijms241411673>
6. Christo S.N., Park S.L., Mueller S.N., Mackay L.K. The multifaceted role of tissue-resident memory T cells. *Annual Review of Immunology*. 2024; 42(1): 317-45. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-101320-020220>
7. Serebryakova M.K., Ilves A.G., Lebedev V.M., Novoselova O.M., Prahova L.N., Kudryavtsev I.V. Subpopulation composition of cytotoxic T-lymphocytes in peripheral blood and cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal*. 2023; 26(2): 149-60. <https://doi.org/10.46235/1028-7221-1533-CTC> (in Russian)
8. Mudrov V.A. Algorithms for statistical analysis of quantitative features in biomedical research using the SPSS software package. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik*. 2020; 1: 140-50. (in Russian)
9. Kawabe T., Yi J., Sprent J. Homeostasis of naive and memory T lymphocytes. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2021; 13(9): 037879. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a037879>
10. Novik A.V., Kudryavtsev I.V., Nekhaeva T.L., Emelyanova N.V., Danilova A.B., Efremova N.A., et al. Prognostic and predictive value of memory T cells in peripheral blood of patients with inoperable or metastatic melanoma. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2021; 17(11): 10-14. <https://doi.org/10.33978/2307-3586-2021-17-11-10-14> (in Russian)
11. Kwiecień I., Rutkowska E., Sokołowski R., Bednarek J., Raniszewska A., Jahnz-Rozyk K., et al. Effector memory T cells and CD45RO+ Regulatory T cells in metastatic vs. Non-metastatic lymph nodes in lung

- cancer patients. *Frontiers in Immunology*. 2022; 13: 864497. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.864497>
12. Hossain M.A., Liu G., Dai B., Si Y., Yang Q., Wazir J., et al. Reinvigorating exhausted CD8+ cytotoxic T lymphocytes in the tumor microenvironment and current strategies in cancer immunotherapy. *Medical Research Reviews*. 2021; 41(1): 156-201. <https://doi.org/10.1002/med.21727>
13. Sobhani N., Tardiel-Cyril D.R., Davtyan A., Generali D., Roudi R., Li Y. CTLA-4 in regulatory T cells for cancer immunotherapy. *Cancers*. 2021; 13(6): 1440. <https://doi.org/10.3390/cancers13061440>
14. Joller N., Anderson A.C., Kuchroo V.K. LAG-3, TIM-3, and TIGIT: Distinct functions in immune regulation. *Immunity*. 2024; 57(2): 206-22. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2024.01.010>

Сведения об авторах:

Крюкова Виктория Викторовна, канд. мед. наук, доцент каф. госпитальной хирургии с курсом детской хирургии ФГБОУ ВО ЧГМА Минздрава России;

Цепелев Виктор Львович, доктор мед. наук, проф., зав. каф. госпитальной хирургии с курсом детской хирургии ФГБОУ ВО ЧГМА Минздрава России;

Терешков Павел Петрович, канд. мед. наук, зав. лаб. экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии «НИИ Молекулярной медицины» ФГБОУ ВО ЧГМА Минздрава России.

Гадиева В.А.¹, Иванов А.В.², Кубатиев А.А.², Дзгоева Ф.У.¹

Цистеин, гомоцистеин и их редокс-статус как предиктор летального исхода у больных на гемодиализе

¹ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия», 362019, Владикавказ, Россия, ул. Пушкинская, д. 40;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8

Введение. Хроническая болезнь почек, особенно терминальная стадия, требующая проведения заместительной почечной терапии, характеризуется высокой сердечно-сосудистой заболеваемостью и смертностью. Уремический синдром, ассоциированный с ХБП, способствует нарастанию окислительного стресса, дисфункции эндотелия и активации воспаления, играющих ключевую роль в развитии сердечно-сосудистых осложнений. Цистеин и гомоцистеин образуют тиол-дисульфидную систему, находящуюся в состоянии динамического равновесия. Нарушение баланса между восстановленными и окисленными формами этих аминотиолов может отражать степень окислительного стресса и его вклад в развитие осложнений ХБП. Целью работы являлось выявление прогностической роли цистеина, гомоцистеина и их редокс-статуса в плазме крови у больных с терминальной почечной недостаточностью.

Методика. В исследование было включено 47 пациентов, получавших заместительную почечную терапию (гемодиализ) в течение не менее 3 месяцев до отбора образцов крови. Длительность наблюдения составила 3 года.

Результаты. Было выявлено, что высокий уровень общего содержания цистеина, гомоцистеина, низкий уровень их восстановленных форм и низкий редокс-статус цистеина (<1%) и гомоцистеина (<6%) являются независимыми предикторами летального исхода у больных на гемодиализе (отношение рисков 4,7 и 4,8 соответственно, $p<0,05$). Повышение плазменного пула гомоцистеина ввиду его недостаточной утилизации почками ведет к возрастанию его концентрации в клетках и активации ферментов транссульфурирования, превращающих гомоцистеин в цистеин. Это вносит свой вклад в возрастание уровня последнего в плазме крови. Нарушение метаболизма гомоцистеина выражается не только в подъеме его общего содержания, но и отражается на тиол-дисульфидном балансе аминотиолов.

Заключение. Общее содержание, восстановленные формы и редокс-статус цистеина и гомоцистеина являются независимым предиктором летального исхода у больных, находящихся на гемодиализе. Оценка редокс-статуса может быть полезна для стратификации риска и разработки стратегий персонализированной терапии, направленных на снижение окислительного стресса и улучшение прогноза у данной категории пациентов. Необходимы дальнейшие исследования для оценки эффективности антиоксидантной терапии и других вмешательств, направленных на коррекцию окислительно-восстановительного баланса у больных на гемодиализе.

Ключевые слова: гемодиализ; редокс-статус; цистеин; гомоцистеин; окислительный стресс

Для цитирования: Гадиева В.А., Иванов А.В., Кубатиев А.А., Дзгоева Ф.У. Цистеин, гомоцистеин и их редокс-статус как предиктор летального исхода у больных на гемодиализе. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2025; 69(3): 25–31.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.25-31

Для корреспонденции: Гадиева Виктория Александровна, e-mail: gadieva1976@mail.ru

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Кубатиев А.А.; сбор и обработка материала – Гадиева В.А., Дзгоева Ф.У.; подготовка иллюстративного материала – Иванов А.В.; статистическая обработка материала – Гадиева В.А.; написание текста – Гадиева В.А.; редактирование – Иванов А.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 05.06.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Gadieva V.A.¹, Ivanov A.V.², Kubatiev A.A.², Dzgoeva F.U.¹**Cysteine, homocysteine and their redox status as a predictor of death in patients on hemodialysis**¹North Ossetian State Medical Academy, 40 Pushkinskaya St., Vladikavkaz, 362019, Russian Federation;²Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8 Baltiyskaya St., Moscow, 125315, Russian Federation

Introduction. Chronic kidney disease (CKD), especially its end stage, that requires renal replacement therapy, is characterized by high cardiovascular morbidity and mortality. Uremic syndrome associated with CKD facilitates oxidative stress, endothelial dysfunction, and inflammation and, thereby, plays a key role in the development of cardiovascular complications. Cysteine and homocysteine form a thiol-disulfide system in a state of dynamic equilibrium. The imbalance between reduced and oxidized forms of these aminothiols may reflect the degree of oxidative stress and its contribution to the development of CKD complications. The aim of this study was to identify the prognostic role of cysteine, homocysteine and their redox status in blood plasma of patients with terminal renal insufficiency.

Methods. The study included 47 patients who received renal replacement therapy (hemodialysis) for at least 3 months prior to blood sampling. The follow-up period was 3 years.

Results. It was found that a high level of total content of cysteine and homocysteine, a low level of their reduced forms, and a low redox status of cysteine (<1%) and homocysteine (<6%) are independent predictors of death in hemodialysis patients (odds ratio 4.7 and 4.8, respectively, $p < 0.05$). An increase in the plasma pool of homocysteine due to its insufficient utilization by the kidneys leads to an increase in its cellular concentration and activation of trans-sulfurization enzymes that convert homocysteine into cysteine. This contributes to an elevation of plasma cysteine. Disorders of homocysteine metabolism are not only evident as increased total cysteine content but also affect the thiol-disulfide balance of aminothiols.

Conclusion. The total content, reduced forms, and redox status of cysteine and homocysteine are independent predictors of death in hemodialysis patients. Assessment of the redox status can be useful for risk stratification and the development of personalized therapeutic strategies for restricting oxidative stress and improving prognosis in this category of patients. Further studies are needed to evaluate the effectiveness of antioxidant therapy and other interventions aimed at the correction of the redox balance in hemodialysis patients.

Keywords: hemodialysis; redox status; cysteine; homocysteine; oxidative stress

For citation: Gadieva V.A., Ivanov A.V., Kubatiev A.A., Dzgoeva F.U. Cysteine, homocysteine and their redox status as a predictor of death in hemodialysis patients. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya (Pathological physiology and experimental therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(3): 25-31. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.25-31

For correspondence: Victoria A. Gadieva, Candidate of Medical Sciences, Associate Prof. of the Department of Pathophysiology, SOGMA, e-mail: gadievava1976@mail.ru

Authors' contribution: concept and design of the study – Kubatiev A.A.; collection and processing of the material – Gadieva V.A., Dzgoeva F.U.; preparation of illustrative material – Ivanov A.V.; statistical processing of the material – Gadieva V.A.; writing the text – Gadieva V.A.; editing the text – Ivanov A.V. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article is shared by all the co-authors.

Information about the authors:Gadieva V.A., <https://orcid.org/0000-0002-4493-9859>Ivanov A.V., <https://orcid.org/0000-0002-2424-6115>Kubatiev A.A., <https://orcid.org/0000-0001-8077-2905>Dzgoeva F.U., <https://orcid.org/0000-0002-7314-9063>

Financing. The study had no sponsorship.

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

Received 05.06.2025

Accepted 25.08.2025

Published 30.09.2025

Введение

Хроническая болезнь почек (ХБП), особенно терминальная стадия, требующая проведения заместительной почечной терапии (диализа), характеризуется высокой сердечно-сосудистой заболеваемостью и смертностью [1, 2].

Уремический синдром, ассоциированный с ХБП, способствует нарастанию окислительного стресса, дисфункции эндотелия и активации воспаления, играющих ключевую роль в развитии сердечно-сосудистых осложнений [3, 4]. Аминотиолы, такие как цистеин и гомоцистеин, образуют тиол-дисульфидную систему, находящуюся в состоя-

нии динамического равновесия [5]. Для ХБП характерны существенные сдвиги как общего содержания аминотиолов, прежде всего гомоцистеина, так и снижение концентрации их восстановленных форм [6]. Поэтому нарушение баланса между восстановленными и окисленными формами аминотиолов может отражать степень окислительного стресса и его вклад в развитие осложнений ХБП [7, 8, 9]. Отношение концентрации восстановленной формы аминотиола к его общему содержанию принято считать его редокс-статусом (РС) [10]. Целью исследования являлась оценка прогностической значимости редокс-статуса аминотиолов в отношении летального исхода у больных, находящихся на гемодиализе.

Методика

В исследование были включены 47 пациентов, находящихся на гемодиализной терапии не менее 3 месяцев. Средний возраст больных составил 61,94 лет (от 39 лет до 78 лет), из них 31 пациент (66,0 %) был мужского пола. Пациенты с острыми инфекционными заболеваниями, злокачественными новообразованиями в активной фазе и тяжелыми не корригируемыми нарушениями электролитного баланса во время проведения обследования исключались. Исследование проводили в соответствии с надлежащей клинической практикой и принципами Хельсинской декларации 1975 г., ее пересмотренному варианту 2000 г., этическим стандартам этического комитета ФГБОУ ВО СОГМА (протокол № 6 от 26.12.2018 г.). Все пациенты подписали добровольное информированное согласие о включении в исследование.

При включении в исследование у всех пациентов собирали анамнез, проводили физикальное обследование, оценивали параметры диализного лечения и сопутствующую терапию. Забор крови осуществлялся до начала очередного сеанса гемодиализа. Общее содержание и уровень восстановленных форм цистеина и гомоцистеина в плазме крови определяли методом жидкостной хроматографии как описано ранее [11]. Образцы венозной крови, взятые натощак в пробирки, содержащие 3,8% цитрат Na , центрифугировали 15 мин при g 3000 и отбирали плазму крови. Для определения общего содержания аминотиолов к 50 мкл плазмы добавляли по 5 мкл 0,2 М дитиотреитола и 1 мМ пеницилламина (внутреннего стандарта) и после инкубации (20 мин при 37°C) вносили 180 мкл ацетонитрила. После перемешивания и центрифугирования (5 мин, 15000г) к супернатанту добавляли 25 мкл 0,4 М реагента Эллмана в диметилсульфоксиде. Избыток органического растворителя удаляли жидкостной экстракцией путем добавления к полученной смеси 0,2 мл хлорформа и выделением водной фазы центрифугированием (2 мин 3000г). Перед анализом к экстрактам добавляли

по 5 мкл 1М HCl. Для определения восстановленных форм аминотиолов к 200 мкл плазмы добавляли 400 мкл 2,5 мМ реактива Эллмана в ацетонитриле и сразу после перемешивания 20 мкл 100 мМ йодацетамида. После осаждения белков центрифугированием (5 мин 15000г) к супернатанту добавляли 20 мкл 25 мкМ пеницилламина в 1 мМ реактиве Эллмана и 1,2 мл воды. Смесь пропускали через 40 мг DEAE-целлюлозы, сорбент промывали 2 мл воды и элюцию проводили 0,4 мл 50 мМ HCl. Анализ проводили на хроматографе Acuity H-class (Waters, США) при длине волны поглощения 330 нм на колонке Poroshell 120 SB-C18 (Agilent, США) размером 150×2 мм с зернением 2,8 мкм. Объем инъекции образца – 10 мкл, скорость потока элюента – 0,2 мл/мин. Элюцию осуществляли градиентом ацетонитрила от 2,5 до 10% за 5 мин в присутствии 0,1 М ацетата аммония с 0,15 М HCOOH.

Конечной точкой исследования являлся летальный исход от всех причин. Длительность наблюдения составила 3 года. Статистический анализ включал построение кривых выживаемости Каплана-Майера, определение чувствительности и специфичности с помощью ROC-анализа. Для оценки прогностической значимости соотношения восстановленных и общих форм аминотиолов в отношении развития летального исхода проводился многофакторный регрессионный анализ Кокса с учетом известных факторов риска прогрессирования ХБП.

Результаты

В течение периода наблюдения зарегистрировано 23 летальных исхода. Доля мужчин в последней группе была значительно выше, чем в группе выживших пациентов. Кроме того, пациенты с летальным исходом характеризовались существенно более высоким уровнем общего цистеина, гомоцистеина, меньшим содержанием их восстановленных форм и, как следствие, существенно меньшим РС по сравнению с выжившими пациентами (табл. 1). Частота встречаемости таких негативных факторов как наличие сахарного диабета, артериальной гипертензии и ИБС значимых отличий в этих группах не имела.

ROC-анализ показал (табл. 2), что исследованные показатели характеризуются довольно высокой и близкой прогностической значимостью в отношении летального исхода.

Анализ Каплана-Майера показал, что пациенты с низким РС цистеина (<1%), гомоцистеина (<6%), восстановленными формами цистеина (<4,49 мкМ) и гомоцистеина (< 2,23 мкМ), а также высокими уровнями общего цистеина (>399,5 мкМ) и гомоцистеина (> 38,5 мкМ) имели значительно более низкую выживаемость ($p<0,01$ для обоих сравнений). Для примера на рис. 1 приведена соответствующая функция выживания для РС аминотиолов.

Таблица 1/Table 1

Сравнительная характеристика пациентов*

Comparative characteristics of patients*

Показатель / Indicator	Вся когорта / The whole cohort	Выжившие / Survived	Умершие / The dead	$P_{\text{Мана-Уитни}} / P_{\text{Manna-Whitney}}$
Число пациентов / Number of patients	47	24	23	
Пол, муж. % / Gender, male. %	66	45,8	87	0,008**
Возраст, лет / Age, years	61,9 (39 – 78)	60 (39 – 72)	64 (54 – 78)	> 0,05
Длительность диализа, мес / Duration of dialysis, months	39,7 (12 – 63)	47,3 (38 – 55)	31,3 (12 – 63)	10^{-3}
Kt / V	2,3 (2,2 – 2,4)	2,3 (2,2 – 2,4)	2,3 (2,2 – 2,4)	> 0,05
Общий цистеин, мкМ / Total cysteine, microns	422 (207 – 511)	371 (207 – 503)	475 (356 – 511)	10^{-3}
Общий гомоцистеин, мкМ / Total homocysteine, microns	42 (22 – 57)	36,9 (22 – 56)	47,6 (36 – 57)	10^{-3}
Восст. цистеин, мкМ / Reduced cysteine, microns	4,26 (2,5 – 7,3)	5,36 (2,5 – 7,3)	3,11 (2,5 – 5,11)	10^{-3}
Восст. гомоцистеин, мкМ / Reduced homocysteine, microns	2,29 (1,6 – 3,62)	2,7 (1,7 – 3,62)	1,87 (1,6 – 2,2)	10^{-3}
РС цистеин, % / Redox status of cysteine, %	1,12 (0,51 – 2,83)	1,56 (0,51 – 2,83)	0,67 (0,51 – 1,26)	10^{-3}
РС гомоцистеин, % / Redox status of homocysteine, %	6,02 (2,821 – 14,18)	7,96 (3,24 – 14,18)	3,98 (2,81 – 5,12)	10^{-3}
Сах. Диабет, % / Diabetes mellitus, %	59,6	66,7	52,1	> 0,05*
ИБС, % / Coronary heart disease, %	74,5	66,7	82,6	> 0,05*
АГ, % / Arterial hypertension %	74,5	79,2	69,6	> 0,05*

Примечание. * данные приведены в виде медианы (1-й квартиль – 3-й квартиль),

** Критерий χ -квадрат.

Note.* the data is given as the median (1-st quartile – 3-rd quartile), ** χ -square criterion.

Таблица 2/Table 2

Показатели ROC-анализа аминотиолов в отношении летального исхода

Indicators of ROC analysis of aminothiols in relation to death

Аналит / Analyte	AUC *	Пороговый уровень / Threshold level	Чувствительность / sensitivity	Специфичность / specificity
Общий цистеин / General cysteine	0,874	> 399,5 мкМ	0,957	0,75
Общий гомоцистеин / Total homocysteine	0,833	> 38,5 мкМ	0,957	0,625
Восст. цистеин / Reconstituted cysteine	0,874	< 4,49 мкМ	0,957	0,792
Восст. гомоцистеин / Reconstituted homocysteine	0,833	< 2,32 мкМ	1,0	0,75
РС цистеин / Redox status of cysteine	0,870	< 1 %	0,91	0,79
РС гомоцистеин / Redox status of homocysteine	0,874	< 6 %	1,0	0,75

Примечание. * площадь под кривой.

Note.* the area under the curve.

Используя полученные выше пороговые значения аминотиолов, мы выявили, что пациенты с высоким их общим содержанием, низким уровнем восстановленных форм и РС имеют значительно более высокий риск летального исхода (табл. 3).

Обсуждение

Более высокая доля мужчин среди умерших пациентов подчеркивает известную уязвимость мужского пола при терминальной почечной недостаточности. Были

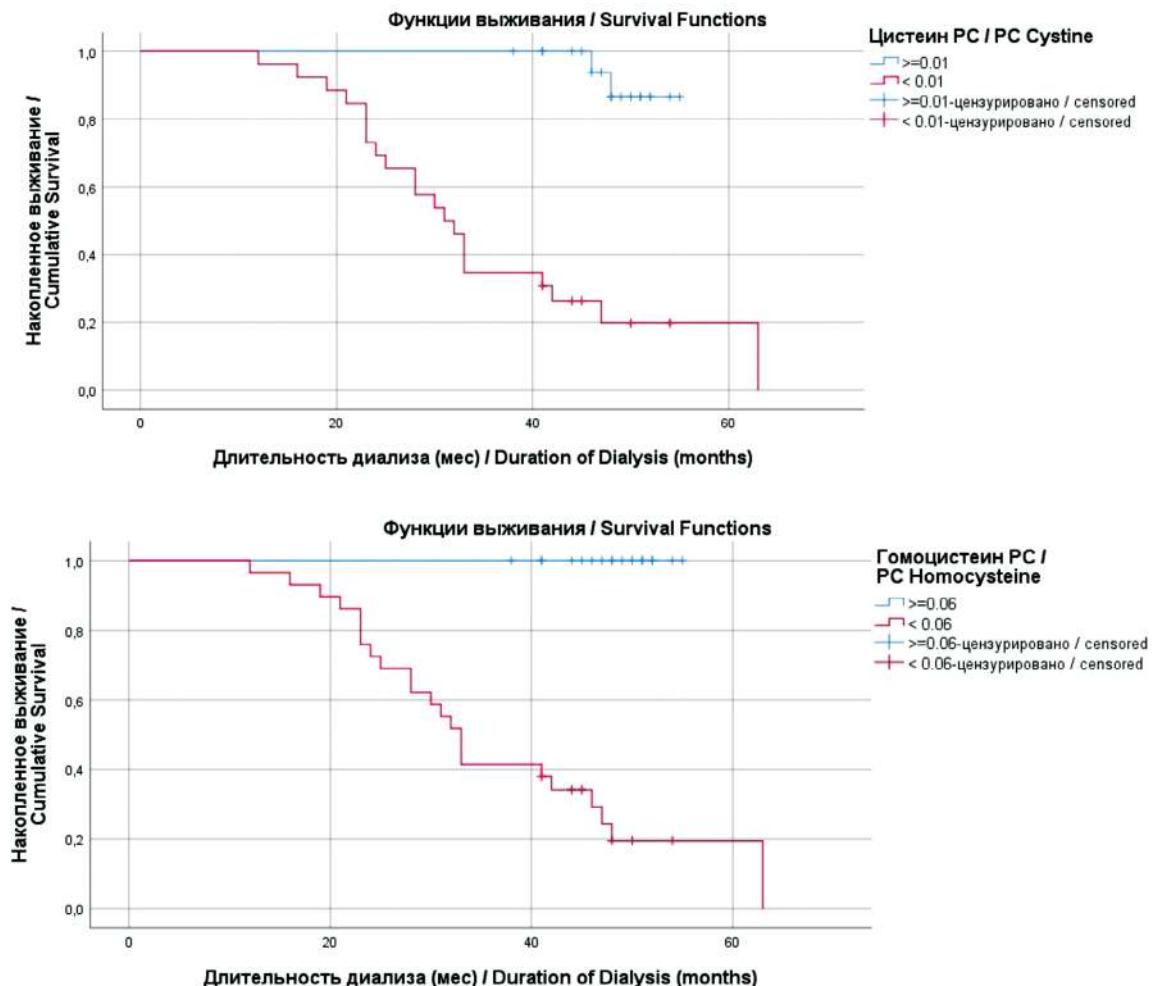


Рис. 1. РС цистеина, гомоцистеина и функции выживания пациентов с ХБП.

Fig. 1. RS cysteine, homocysteine, and survival functions in patients with CKD.

выявлены существенные различия между выжившими и умершими пациентами, находящимися на гемодиализе, указывая на потенциальную роль низкомолекулярных аминотиолов в прогнозировании исхода. В частности, обращает на себя внимание выраженная связь между полом, длительностью диализа, уровнями общего цистеина, общего гомоцистеина, восстановленного цистеина, восстановленного гомоцистеина, РС цистеина и РС гомоцистеина с выживаемостью. Меньшая длительность диализа у умерших, вероятно, отражает более быстрое прогрессирование заболевания и, возможно, недостаточную эффективность проводимой терапии. Важно отметить, что значимые различия в уровнях аминотиолов между группами могут указывать на их участие в патогенезе осложнений, приводящих к летальному исходу.

Результаты нашего исследования согласуются с предыдущими работами, в которых было выявлено, что гипергомоцистеинемия является характерной для прогрессирующей почечной недостаточности [12]. Повышение плазменного пула гомоцистеина ввиду его недостаточной утилизации почками ведет к возрастанию его концентрации в клетках и активации ферментов транссульфурирования, превращающих гомоцистеин в цистеин. Это вносит свой вклад в возрастание уровня последнего в плазме крови. Нарушение метаболизма гомоцистеина выражается не только в подъеме его общего содержания, но и отражается на тиол-дисульфидном балансе аминотиолов. Так, в норме РС гомоцистеина составляет 1–2%, в то время как РС цистеина около 5% [13]. Однако высокое содержание гомоцистеина в клетках, который находится там преимущественно

Таблица 3/Table 3

Редокс-статус цистеина и гомоцистеина у больных с терминальной почечной недостаточностью

Redox status of cysteine and homocysteine in patients with terminal renal insufficiency

Показатель / Indicator		Выжил / Survived	Лет.исход / Fatal outcome	Всего / In total	RR* / RR*	p
Общ. цистеин / General cysteine	≤400	18	1	19	4,421	<10 ⁻³
	>400	6	22	28		
Общ. гомоцистеин / General homocysteine	≤39	15	1	16	3,229	<10 ⁻³
	>39	9	22	31		
Восст. цистеин / Reconstituted cysteine	≥4	19	2	21	4,705	<10 ⁻³
	<4	5	21	26		
Восст. гомоцистеин / Reconstituted homocysteine	≥2,1	19	5	24	3,642	<10 ⁻³
	<2,1	5	18	23		
РС цистеин / RS of cysteine	≥0,01	19	2	21	4,705	<10 ⁻³
	>0,01	5	21	26		
РС гомоцистеин / RS of homocysteine	≥0,06	18	0	18	4,833	<10 ⁻³
	<0,06	6	23	29		

Примечание. * Относительный риск.

Note. * Relative risk.

в восстановленной форме, создает настолько высокий уровень его транспорта в плазму крови, что термодинамическое равновесие между ним и другими тиолами не достигается и РС гомоцистеина остается существенно выше, чем РС цистеина, хотя в норме, напротив, цистеин имеет более высокий РС, поскольку рК его сульфогруппы меньше, чем у гомоцистеина [14]. Если в норме содержание восстановленного гомоцистеина составляет 0,1–0,2 мкМ, то у пациентов на диализе этот показатель был в 10–30 раз выше.

Данные результаты свидетельствуют о том, что не только общее содержание цистеина и гомоцистеина, но и нарушение окислительно-восстановительного баланса, отраженное в их сниженном РС, является независимым фактором риска летального исхода у больных, получающих заместительную терапию.

Окислительный стресс, ассоциированный с уремией, способствует окислению аминотиолов, снижая их антиоксидантную активность и ухудшая защиту от свободнорадикального повреждения. Пониженное содержание восстановленных форм цистеина и гомоцистеина может негативно влиять на функцию эндотелия, способствовать прогрессированию атеросклероза и повышать риск сердечно-сосудистых осложнений, что, в свою очередь, увеличивает риск летального исхода. Полученные данные согласуются с результатами предыдущих исследований, демонстрирующих связь между окислительным стрессом и повышенной смертностью у больных с ХБП. В работах R.T. Pinzon, B.M. Wijaya было показано, что повышенные уровни гомоцистеина, в частности, связаны

с повышенным риском сердечно-сосудистых заболеваний и смертности среди пациентов на диализе [15]. Однако наше исследование впервые демонстрирует прогностическую значимость соотношения общих и восстановленных форм аминотиолов, что может отражать более комплексную картину окислительно-восстановительного статуса организма.

Выводы

Общее содержание, восстановленные формы и РС цистеина и гомоцистеина являются независимым предиктором летального исхода у больных, находящихся на гемодиализе. Оценка соотношения общих и восстановленных форм аминотиолов может быть полезна для стратификации риска и разработки стратегий персонализированной терапии, направленных на снижение окислительного стресса и улучшение прогноза у данной категории пациентов. Необходимы дальнейшие исследования для оценки эффективности антиоксидантной терапии и других вмешательств, направленных на коррекцию окислительно-восстановительного баланса у больных на гемодиализе.

Литература
(п.п. 1–8; 10; 11; 13–15 см. References)

- Дзугкоев, С.Г., Дзугкоева Ф.С., Гадиева В.А. Показатели общих и восстановленных форм аминотиолов в плазме крови как биохимических маркеров эффективности гемодиализной терапии у пациентов с терминальной хронической почечной недостаточностью. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2024; 178(9): 301–5. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2024-178-9-301-305>

12. Круглова М.П., Иванов А.В., Введенская О.Ю., Кубатиев А.А. Гипергомоцистинемия и хроническая болезнь почек. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2018; 62(4): 195–201.

References

- Zoccali C., Mallamaci F., Adamczak M., de Oliveira R.B., Massy Z.A., Sarafidis P., et al. Cardiovascular complications in chronic kidney disease: a review from the European Renal and Cardiovascular Medicine Working Group of the European Renal Association. *Cardiovascular research*. 2023; 119(11): 2017-32. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvad083>
- Braun M.M., Khayat M. Kidney Disease: Chronic Kidney Disease. *Family physician essentials*. 2021; 509: 20-5. PMID: 34643361
- Pavão M.L., Ferin R., Lima A., Baptista J. Cysteine and related aminothiols in cardiovascular disease, obesity and insulin resistance. *Advances in clinical chemistry*. 2022; 109: 75-127. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2022.03.003>
- Garavaglia M.L., Giustarini D., Colombo G., Reggiani F., Finazzi S., Calatroni M., et al. Blood Thiol Redox State in Chronic Kidney Disease. *International journal of molecular sciences*. 2022; 3(5): 2853. <https://doi.org/10.3390/ijms23052853>
- Yamauchi K., Kawakami Y. The redox status of cysteine thiol residues of apolipoprotein E impacts on its lipid interactions. *Biological chemistry*. 2020; 401(5): 617-27. <https://doi.org/10.1515/hsz-2019-0414>
- Xiao W., Ye P., Wang F., Cao R., Bai Y., Wang X. Plasma Homocysteine Is a Predictive Factor for Accelerated Renal Function Decline and Chronic Kidney Disease in a Community-Dwelling Population. *Kidney. Blood pressure research*. 2021; 46(5): 541-49. <https://doi.org/10.1159/000514360>
- Chen W., Feng J., Ji P., Liu Y., Wan H., Zhang J. Association of hyperhomocysteinemia and chronic kidney disease in the general population: a systematic review and meta-analysis. *BMC Nephrol*. 2023; 24(1): 247. <https://doi.org/10.1186/s12882-023-03295-y>
- Kruglova M.P., Ivanov A.V., Fedoseev A.N., Virus E.D., Stupin V.A., Parfenov V.A. et al. The Diagnostic and Prognostic Roles Played by Homocysteine and Other Aminothiols in Patients with Chronic Kidney Disease. *J Clin Med*. 2023; 12(17): 5653. <https://doi.org/10.3390/jcm1217563>
- Dzugkoev S.G., Dzugkoeva F.S., Gadieva V.A. Indicators of total and reduced forms of aminothiols in blood plasma as biochemical markers of the effectiveness of hemodialysis therapy in patients with terminal chronic renal failure. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i meditsiny*. 2024; 178(9): 301-5. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2024-178-9-301-305> (in Russian)
- Rookyard A.W., Paulech J., Thyssen S., Liddy K.A., Puckeridge M., Li D.K. et al. A Global Profile of Reversible and Irreversible Cysteine Redox Post-Translational Modifications During Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury and Antioxidant Intervention. *Antioxidants. Redox signaling*. 2021; 34(1): 11-31. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7765>
- Ivanov A.V., Alexandrin V.V., Paltsyn A.A., Virus E.D., Nikiforova K.A., Bulgakova P.O. et al. Prevent the Decline of the Redox Status of Low-Molecular-Weight Aminothiols in Blood Plasma of Rats During Acute Cerebral Ischemia. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2018; 72(4): 195-203. <https://doi.org/10.1097/FJC.00000000000000616>
- Kruglova M.P., Ivanov A.V., Vvedenskaya O.Yu., Kubatiev A.A. Hyperhomocysteinemia and chronic kidney disease. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2018; 62(4): 195–201. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2018.04.195-201> (in Russian)
- Williams R.H., Maggiore J.A., Reynolds R.D., Helgason C.M. Novel approach for the determination of the redox status of homocysteine and other aminothiols in plasma from healthy subjects and patients with ischemic stroke. *Clin Chem*. 2001; 47(6): 1031-9. PMID: 11375288
- Glushchenko A.V., Jacobsen D.W. Molecular targeting of proteins by L-homocysteine: mechanistic implications for vascular disease. *Antioxidants. Redox signaling*. 2007; 9(11): 1883–98. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1809>
- Pinzon R.T., Wijaya B.M., Pramudita E.A., Wuryaningsih N.S., Sujatno P. Prevalence of elevated levels of homocysteine (hyperhomocysteinemia) in patients with chronic kidney disease undergoing hemodialysis. *Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan*. 2019; 3(53): 21-5. <https://doi.org/10.23950/1812-2892-JCMK-00665>

Сведения об авторах:

Гадиева Виктория Александровна, канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО СОГМА;
Иванов Александр Владимирович, канд. мед. наук. ФГБНУ «НИИОПП», лаб. функциональной протеомики и метаболомики;

Кубатиев Аслан Амирханович, доктор мед. наук., акад. РАН, науч. руководитель ФГБНУ «НИИОПП»; президент Российской научного общества патофизиологов и председатель Научного совета по общей патологии и патофизиологии;

Дзгоева Фатима Урзмаговна, доктор мед. наук, проф. каф. терапии ФПДО ФГБОУ ВО СОГМА.

Киреева А.В.¹, Коленчукова О.А.^{2,4}, Бирюкова Е.А.², Столляр С.В.^{1,3}

Морфологические и морфометрические характеристики печени при воздействии наночастиц ферригидрита

¹ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», 660036, Красноярск, Россия, Академгородок, д. 50/12, корпус 2;

²ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», 660022, Красноярск, Россия, ул. Партизана Железняка, д. 3-г;

³ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», 660041, Красноярск, Россия, просп. Свободный, д. 79;

⁴ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», 660049, Красноярск, Россия, пр. Мира, д. 90

Введение. Наночастицы ферригидрита являются перспективными объектами для использования в различных биомедицинских целях. Однако, применение наночастиц ферригидрита (НЧФ) связано с вопросами их биобезопасности. Печень – один из критически важных органов, подверженных воздействию наноматериалов. Она играет центральную роль в метаболизме и детоксикации, и её повреждение может привести к серьёзным неблагоприятным последствиям. Поэтому исследование воздействия НЧФ на печень является актуальной и важной задачей. **Цель** исследования – изучение влияния НЧФ на морфологическую структуру печени в зависимости от способа их синтеза после перорального введения.

Методика. Эксперимент проводился на 3-х группах лабораторных мышей (самцы, $n=55$): 1-я группа – контрольная ($n=15$), получала корм без добавок; 2-я группа ($n=20$) – опытная, получала корм с добавлением синтетических НЧФ; 3-я группа ($n=20$) – опытная, получала корм с добавлением биогенных НЧФ. Кормосмесь для опытных групп подготавливали в лабораторном смесителе СЛ-12пнд. Забор биологического материала осуществляли на 1-е, 22-е и 36-е сутки эксперимента. Образцы печени подготавливали по стандартным гистологическим методикам. Окрашивание срезов производили гематоксилином и эозином и по Перлсу (для выявления наночастиц железа). Морфометрический анализ гистологических препаратов выполнялся в программе «ВидеоТест – Морфология 7.0». Значимость различий между независимыми выборками оценивали с помощью U-критерия Манна–Уитни. Значимость различий между зависимыми выборками оценивали с помощью T-критерия Вилкоксона. Различия считали значимыми от $p<0,05$.

Результаты. Показано, что введение с кормом НЧФ приводит к статистически значимым изменениям морфометрических показателей печени. В опытных группах отмечалось достоверное увеличение диаметра междольковых вен, на фоне снижения диаметра центральных вен, и выраженное увеличение в обеих группах доли безъядерных гепатоцитов. Так же в печеночной ткани выявлялись воспалительные признаки с различной интенсивностью патологических процессов, что приводило к нарушению компенсаторных возможностей органа.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о негативном влиянии на печень НЧФ (как синтетического, так и биогенного происхождения), проявляющемся в виде некробиотических изменений паренхимы печени.

Ключевые слова: печень мыши; наночастицы ферригидрита; пероральное введение; морфометрические показатели; гистологическое исследование

Для цитирования: Киреева А.В., Коленчукова О.А., Бирюкова Е.А., Столляр С.В. Морфологические и морфометрические характеристики печени при воздействии наночастиц ферригидрита. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2025; 69(3): 32–40.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.32-40

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Столляр С.В.; сбор и обработка материала, анализ и интерпретация данных – Киреева А.В., Бирюкова Е.А., Коленчукова О.А.; написание статьи – Бирюкова Е.А.; редактирование – Коленчукова О.А. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Бирюкова Елена Антоновна, e-mail: helena.biryukova.1996@gmail.com

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

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

Поступила 21.04.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Kireeva A.V.¹, Kolenchukova O.A.^{2,4}, Biryukova E.A.², Stolyar S.V.^{1,3}**Morphological and morphometric characteristics of the liver in exposed to ferrihydrite nanoparticles**¹ Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Science, 50/12 Akademgorodok, Bldg. 2, Krasnoyarsk, 660036, Russian Federation;² Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Science, 3G Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation;³ Siberian Federal University, 79 Svobodnyi Prospekt., Krasnoyarsk, 660041, Russian Federation;⁴ Krasnoyarsk State Agricultural University, 90 Prospekt Mira, Krasnoyarsk, 660049, Russian Federation

Introduction. Ferrihydrite nanoparticles (FNPs) are promising for various biomedical applications. However, the use of FNPs is associated with biosafety issues. The liver is one of the critically important organs exposed to nanomaterials. It plays a central role in metabolism and detoxification, and its damage can lead to serious adverse consequences. Therefore, studying effects of FNPs on the liver is a relevant and important task. **The aim** of the study was to evaluate the effect of FNPs on the liver morphological structure after oral administration, depending on the method of FNP synthesis.

Methods. The experiment was performed on 3 groups of laboratory mice (males, $n=55$): group 1 ($n=15$), control that was fed food not supplemented with FNPs; group 2 ($n=20$), experimental group, was fed food supplemented with synthetic FNPs; group 3 ($n=20$), experimental group, was fed food supplemented with biogenic FNPs. The feed mixture for the experimental groups was prepared in a laboratory mixer SL-12pnd. Biological material was sampled on days 1, 22, and 36 of the experiment. Liver samples were prepared according to standard histological methods and stained with hematoxylin-eosin, and with Perls Prussian blue to detect iron nanoparticles. The morphometric analysis of liver tissue was performed using the ViodeoTesT-Morphology 7.0 software. The significance of cross-sample differences (p) was assessed using the Mann-Whitney U-test. The significance of differences between dependent samples was assessed using the Wilcoxon T-test. Differences were considered statistically significant at $p<0.05$.

Results. The administration of FNPs with food leads to statistically significant changes in the morphometric parameters of the liver. In experimental groups 2 and 3, the diameter of the interlobular veins was significantly increased, which was associated with a decrease in the central vein diameter. The proportion of non-nuclear hepatocytes was markedly increased in both groups. Also, the liver tissue showed inflammation signs with varying intensity of pathological processes resulting in the impairment of the liver compensatory capabilities.

Conclusion. The study showed a negative effect of FNPs (both synthetic and biogenic) on the liver manifested in the form of necrobiotic changes in the liver parenchyma.

Keywords: mouse liver; ferrihydrite nanoparticles; oral administration; morphometric parameters; histological examination

For citation: Kireeva A.V., Kolenchukova O.A., Biryukova E.A., Stolyar S.V. Morphological and morphometric characteristics of the liver when effect to ferrihydrite nanoparticles. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(3): 32-40. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.32-40

Author's contribution: concept and design of the study – Stolyar S.V.; collection and processing of material – Kireeva A.V., Biryukova E.A., Kolenchukova O.A.; statistical processing – Kolenchukova O.A.; writing the text – Biryukova E.A.; editing the text – Kolenchukova O.A. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: *Elena A. Biryukova*, Junior Researcher at the laboratory of molecular cellular physiology and pathology of the Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, e-mail: helena.biryukova.1996@gmail.com

Information about the authors:Kireeva A.V., <https://orcid.org/0000-0001-8134-0899>Kolenchukova O.A., <https://orcid.org/0000-0001-9552-447X>Biryukova E.A., <https://orcid.org/0000-0002-7650-0170>**Financing.** The study had no sponsorship.**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 21.04.2025

Accepted 25.08.2025

Published 30.09.2025

Введение

В последние десятилетия, с помощью нанотехнологий были разработаны различные типы частиц нанометрового диапазона, которые активно изучаются в разных направлениях биомедицины [1]. Большое внимание среди неорганических наноматериалов занимают магнитные наночастицы, из которых хорошо изучены частицы оксида железа [2, 3]. Как правило, при лабораторном синтезе наночастиц железа у них отсутствует какое-либо покрытие, и при попадании в организм данные частицы склонны к агрегации [4]. Инкапсуляция наночастиц в различные биосовместимые оболочки может улучшить их коллоидную стабильность и, соответственно, эффективность взаимодействия с клетками [5]. В процессе культивирования бактерия вида *Klebsiella oxytoca* может продуцировать экзополисахарид, который инициирует восстановление ионов металлов и образование высокостабильных инкапсулированных наночастиц оксида железа [6], представляющих ферригидрит, размером 2–7 нм [7].

Благодаря своим свойствам и размерам, наночастицы могут легко проникать в клетки, и перемещаться по тканям и органам. Однако эта способность может вызывать и различные неблагоприятные токсические эффекты [8, 9]. Многие исследования на животных показали, что печень способна накапливать в себе наночастицы оксида железа, но на текущий момент, полного представления об их влиянии на данный орган не сформировано [10, 11].

В связи с этим, целью данного исследования является изучение влияния синтетических и биогенных наночастиц ферригидрита на морфометрическую и морфологическую структуру печени лабораторных мышей при пероральном введении.

Методика

Исследование проведено на мышах-самцах аутбредной популяции ICR, массой 22–24 г, в возрасте 3 мес, полученных в питомнике Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор». Животных содержали в стандартных условиях вивария. Работу с животными проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», принципами Европейской конвенции (г. Страсбург, 1986 г.) и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными, 2008 г. Протокол исследования одобрен этическим комитетом (Протокол № 10 от 12.10.2020 ЛЭК ФИЦ КНЦ СО РАН).

В эксперименте было задействовано 55 мышей, разделенных на 3 группы. 1 группа – интактные животные (15 особей), получавшие стандартное кормление в количестве 16 гр. корма «Дельта Фидс Р-22» на одну голову

в сутки. Животным 2-й группы (20 особей) в корм добавляли синтетические НЧФ. Животным 3-й группы (20 особей) в корм добавляли биогенные НЧФ. Корм «Дельта Фидс» предварительно перемешивали с использованием устройства ES-8300 (Экохим, Россия), далее к корму объемом 10 кг добавляли 500 мг сухого золя НЧФ из расчёта 25 мг/кг на одно животное. Кормовая смесь повторно перемешивалась в лабораторном смесителе СЛ-12пнд (ООО «ЗЕРНОТЕХНИКА», Россия). Для раздачи корма использовался мерный стакан. Доступ к воде и пище был свободным. Длительность эксперимента составила 36 суток. Кормовую смесь начинали давать с первого дня эксперимента.

Забор образцов для анализа осуществляли в 1-е сутки эксперимента до начала кормления (интактные особи, $n=5$); далее, после введения прикорма на 22-е (интактные особи, $n=5$; экспериментальные особи, входящие во 2-ю группу, $n=10$; экспериментальные особи входящие в 3-ю группу, $n=10$) и на 36-е сутки (интактные особи, $n=5$; экспериментальные особи, входящие во 2-ю группу, $n=10$; экспериментальные особи, входящие в 3-ю группу, $n=10$).

Образцы синтетического ферригидрита размером $\sim 2,5$ нм были получены гидролизом нитрата железа (III) [12]. В ходе реакции образовывался темно-коричневый осадок из наночастиц ферригидрита (НЧФ), который впоследствии промывали деионизированной водой и сушили при комнатной температуре.

Образцы биогенного ферригидрита были получены в процессе культивации бактерий *Klebsiella oxytoca* [13]. Используемые микроорганизмы были выделены из сапропеля озера Боровое (Красноярский край). Бактерии выращивали в среде Лавли на цитрате железа. Для выделения ферригидрита бактериальную биомассу центрифугировали, затем супернатант обрабатывали ультразвуком, промывали дистиллированной водой и 2%-ным раствором NaOH до достижения pH надосадочной жидкости значения равного 8. Таким образом, был получен золь биогенных НЧФ, который впоследствии был высушен при комнатной температуре.

Размер наночастиц ферригидрита, определённый с помощью Zetasizer Nano (Malvern Instruments Ltd., Малверн, Великобритания) в Красноярском научном центре СО РАН, составлял 2–3 нм. Изучение ИК-спектров биогенных наночастиц с помощью Фурье-спектрометра Bruker Vertex 80V (Bruker Elemental GmbH, Германия) показало, что наночастицы биогенного ферригидрита встроены в железосвязывающие экзополисахариды.

Забор биологического материала печени проводили на 1-е, 22-е и 36-е сутки. Образцы печени фиксировали в забуференном 10%-ном формалине HistoSafe (Biovitrum, Россия), затем обрабатывали для обезвоживания на автоматическом тканевом процессоре (Thermo Scientific STP 120, Гер-

мания). Исследуемую ткань помещали в парафиновые блоки с помощью станции заливки (ESD-2800, Россия). Серийные срезы исследуемой ткани толщиной 3 мкм делили с помощью микротома (HM 340E, HistoStar Thermo Scientific, Германия). Окрашивание срезов печени гематоксилином Майера (Biovitrum, Россия) и эозином (Biovitrum, Россия) выполняли на станции автоматической фиксации и окрашивания мазков (АФОМК-16–26 ПРО, Россия). С целью идентификации в тканях ионов Fe^{3+} , которые входят в состав НЧФ, использовали гистохимическую реакцию с ферроцианидом калия (Biovitrum, Россия) по методу Перлса. Микропрепараты анализировали в проходящем свете на микроскопе Axiolab 5 (Carl Zeiss, Германия) с фотосъемкой с помощью цифровой фотокамеры Axiocam 208 color (Carl Zeiss, Германия). Производили микрофотосъемку случайных полей зрения гистологических препаратов печени всех групп при увеличении $\times 100$ и $\times 400$ (не менее 10 полей зрения в каждом гистологическом срезе). Подсчёт гепатоцитов проводили на 100 клетках в 10 полях зрения при $\times 100$. Для морфометрического анализа препаратов печени использовали программное обеспечение «Анализ изображений «ВиdeoTecT-Морфология 7.0» (ВидеоTecT, Санкт-Петербург). Учитывая, что проводились измерения объектов, аппаратно-программный комплекс был откалиброван с использованием объект-микрометра ОМП (выпущеного по ГОСТ 7513–55 и прошедшего поверку по методике Государственной системы обеспечения единства измерений ГСИ).

В срезе печени определяли следующие морфометрические параметры: 1) диаметр печёночных трабекул (мкм); 2) диаметр синусоидных капилляров (мкм); 3) диаметр центральных вен (мкм); 4) диаметр междольковых вен (мкм); 5) диаметр желчного протока (мкм); 6) площадь гепатоцитов (мкм²); 7) площадь ядра (мкм²); 8) площадь цитоплазмы гепатоцитов (мкм²); 9) процентное количество одноядерных гепатоцитов (%); 10) процентное количество двуядерных гепатоцитов (%); 11) процентное количество безъядерных гепатоцитов (%).

База данных формировалась при помощи программы Microsoft Excel (Microsoft, США). Достоверность различий (p) оценивали между показателями зависимых и независимых выборок с помощью программы Statistica 10.0. Описание выборки производили с учётом нормального распределения с помощью подсчёта среднего результата (M) и ошибки среднего (m). Соответствие распределения нормальному оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Значимость различий между независимыми выборками оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Значимость различий между зависимыми выборками оценивали с помощью T-критерия Вилкоксона. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Полученные данные морфометрических структурных компонентов печени представлены в **таблице 1**. В печени животных 2-й и 3-й групп, при сравнении с группой контроля, на 22-е сутки ширина трабекул была больше в 1,2 ($p < 0,05$) и 1,3 ($p < 0,001$) раза соответственно (**табл. 1**). Синусоиды 2-й группы на 22-е сутки были увеличены в 2,6 ($p < 0,001$) и 1,3 ($p < 0,05$) раза относительно контроля и 3-й группы. Сосуды гемомикроциркулярного русла печени, а именно междольковые вены, имели различный диаметр: у 2-й группы они были увеличены в 1,3 раза ($p < 0,05$), у 3-й в 1,4 раза ($p < 0,05$) относительно контроля. Среди экспериментальных групп, наибольший диаметр центральных вен был у 2-й группы ($p < 0,05$), у 3-й – наименьший ($p < 0,001$) относительно 1 суток и группы контроля. Также выявлено, что диаметр желчных протоков на 22-е сутки увеличен в 3-й группе в 3,2 ($p < 0,05$) раза относительно контроля и 1,6 раза ($p < 0,001$) относительно 2-й группы.

На 36-е сутки у 3-й группы, по сравнению с контролем, отмечалось увеличение ширины трабекул в 1,5 ($p < 0,001$) раза. Во 2-й и 3-й группах относительно контроля так же выявлялось увеличение диаметра синусоидов в 1,7 ($p < 0,001$) и 1,9 ($p < 0,001$) раз соответственно. В 3-й группе снизился диаметр центральных вен ($p < 0,05$) относительно контроля. Диаметр желчных протоков во 2-й и 3-й группах был достоверно увеличен относительно контроля в 2,4 ($p < 0,05$) и 3,5 ($p < 0,001$) раза.

На 22-е сутки в обеих опытных группах отмечалось умеренное венозное полнокровие сосудов, рыхлые стенки кровеносных сосудов и набухший эндотелий сосудов. Балочное строение печени нарушено. Гепатоциты с признаками некробиотических изменений, где отмечалось разрушение клеточной мембранны (периферический цитолиз) – что свидетельствует о некрозе клеток (**рис. 1, а/а**). В синусоидах отмечали лейкостазы, увеличенные клетки Купфера. В крупных портальных трактах отмечали лимфогистиоцитарную инфильтрацию. В мелких портальных трактах – точечные очаги некроза (**рис. 1, в/с**). Реакция по Перлсу положительная, при этом отмечается единичные макрофаги, имеющие Перлс-позитивные гранулы в цитоплазме (**рис. 1, б/б**). В 3-й группе, где животные получали биогенные НЧФ, отмечались множественные макрофаги, имеющие Перлс-позитивные гранулы в цитоплазме, распространяющиеся по паренхиме печени (**рис. 1 г/д**). В синусоидах отмечается содержание клеточного детрита, клеток крови и увеличение клеток Купфера, как в количестве, так и в размерах. В перипортальной зоне преобладали гепатоциты небольших размеров и двуядерные клетки.

Таблица 1/Table 1

Морфометрические параметры печени мышей при добавлении в корм железосодержащих наночастиц ферригидрита синтетического и биогенного происхождения, $M \pm m$

Morphometric parameters of the mouse liver after fodder supplementation with synthetic and biogenic ferrihydrite nanoparticles, $M \pm m$

Параметр Parameter	1 группа (контроль) Group 1 (control)			2 группа (синтетические НЧФ) Group 2 (synthetic FNPs)		3 группа (биогенные НЧФ) Group 3 (biogenic FNPs)	
	1-е сутки 1 day (n=5)	22-е сутки 22 days (n=5)	36-е сутки 36 days (n=5)	22-е сутки 22 days (n=10)	36-е сутки 36 days (n=10)	22-е сутки 22 days (n=10)	36-е сутки 36 days (n=10)
Ширина трабекул, мкм / Width of trabeculae, μm	12,4 \pm 1,2	14,1 \pm 1,5	15,6 \pm 1,9	16,4 \pm 2,8 ^{*1, *22}	20,3 \pm 6,1 ^{*1}	18,0 \pm 1,0 ^{*1, *22}	23,6 \pm 3,2 ^{*36}
Диаметр синусоиды, мкм / Diameter of the sinusoids, μm	4,4 \pm 0,8	2,5 \pm 0,5	3,5 \pm 0,6	6,4 \pm 1,0 ^{*1, *22}	6,1 \pm 0,7 ^{*1, *36}	5,1 \pm 1,5 ^{*22, #22}	6,7 \pm 1,5 ^{*36}
Диаметр центральной вены, мкм / Diameter of the central vein, μm	74,8 \pm 14,1	70,3 \pm 21,0	62,4 \pm 18,1	62,3 \pm 23,4 ^{*1}	55,8 \pm 17,7 ^{*1}	60,9 \pm 16,6 ^{*1}	62,5 \pm 12,7 ^{*1, *36}
Диаметр междольковых вен, мкм / Diameter of the interlobular veins, μm	42,4 \pm 14,0	44,0 \pm 18,0	43,0 \pm 18,1	56,5 \pm 18,1 ^{*22}	62,2 \pm 20,3	59,5 \pm 20,6 ^{*22}	60,8 \pm 18,0 ^{*22}
Диаметр желчных протоков, мкм / Diameter of the bile ducts, μm	6,8 \pm 1,3	5,1 \pm 3,6	5,7 \pm 2,4	10,4 \pm 3,3	13,4 \pm 3,6 ^{*1, *36}	16,5 \pm 2,4 ^{*22, #22}	19,7 \pm 4,5 ^{*36, #36}

Примечание. Значимость различий по сравнению с показателями группы контроля: ^{*1}($p<0,05$) на 1-е сут эксперимента, ^{*22}($p<0,05$) на 22-е сутки эксперимента, ^{*36}($p<0,05$) на 36 сутки эксперимента; Значимость различий по сравнению с показателями 2-й группы: ^{#22}($p<0,05$) на 22-е сутки эксперимента, ^{*36}($p<0,05$) на 36-е сутки эксперимента; n – число животных; НЧФ – наночастицы ферригидрита.

Note. The significance of the differences compared with the indicators of the control group: ^{*1}($p<0,05$) on the 1st day of the experiment, ^{*22}($p<0,05$) on the 22nd day of the experiment, ^{*36}($p<0,05$) on the 36th day of the experiment; The significance of the differences compared with the indicators of the 2nd group: ^{#22}($p<0,05$) on the 22nd day of the experiment, ^{*36}($p<0,05$) on the 36th day of the experiment; n – the number of animals; FNPs – ferrihydrite nanoparticles.

При морфологическом исследовании печени на 36-е сутки эксперимента у животных в обеих группах отмечалось венозное полнокровие и нарушение балочного строения (рис. 2, а/а). В синусоидах отмечается содержание клеточного детрита, клеток крови и увеличение клеток Купфера, как в количестве, так и в размерах (рис. 2, б/б). В перипортальной зоне преобладали гепатоциты небольших размеров и двуядерные. Чем дальше от перипортальной зоны и ближе к центрилобулярной зоне отмечались неравномерно выраженные очаги некробиотически изменённых гепатоцитов в виде зернистой и гидропической дистрофии, так клетки увеличивались в объёме, цитоплазма была заполнена вакуолями, содержащими прозрачную жидкость, ядра смещались на периферию, границы цитоплазмы клеток стирались (рис. 2, г/д). Вокруг портальных трактов отмечалась лимфогистиоцитарная инфильтрация (рис. 2, а/а; в/с).

Реакция по Перлсу положительная в обеих экспериментальных группах (рис. 2, д/е; е/ф). При этом во 2-й группе отмечалось скопление вокруг центральных вен множества макрофагов, нагруженных Перлс-позитивными гранулами. В 3-й группе, по сравнению со 2-й отмечались выраженные

некробиотические изменения паренхимы печени: нарушение гистоархитектоники ткани, полнокровие сосудов печени. Портальные тракты с признаками деструкции: стеки артерий и вен утолщены, эндотелий сосудов набухший, рыхлый. Вокруг портальных трактов мелкие очаги некроза. Гепатоциты с признаками гидропической дистрофии.

Морфометрические показатели по фракционному составу гепатоцитов печени приведены в таблице 2. На 22-е сутки во 2-й и 3-й группах наблюдалось увеличение общей площади гепатоцитов в 1,4 ($p<0,001$) и 1,3 ($p<0,05$) раза относительно контроля. Площадь ядер и цитоплазмы гепатоцитов во 2-й группе увеличилась относительно контроля в 1,4 раза ($p<0,05$). При количественной оценке одноядерных, двуядерных и некротизированных гепатоцитов выявлено, что на 22-е сутки относительно контроля, доля одноядерных клеток во 2-й группе снижалась на 13% ($p<0,001$), количество двуядерных клеток снижалось на 12% ($p<0,05$) во 2-й группе и на 11% ($p<0,001$) в 3-й группе, доля некротизированных гепатоцитов увеличилась на 22% ($p<0,001$) во 2-й и на 13% ($p<0,001$) в 3-й группе. В 3-й группе, относительно 2-й, доля одноядерных гепатоцитов увеличилась на 7% ($p<0,05$).

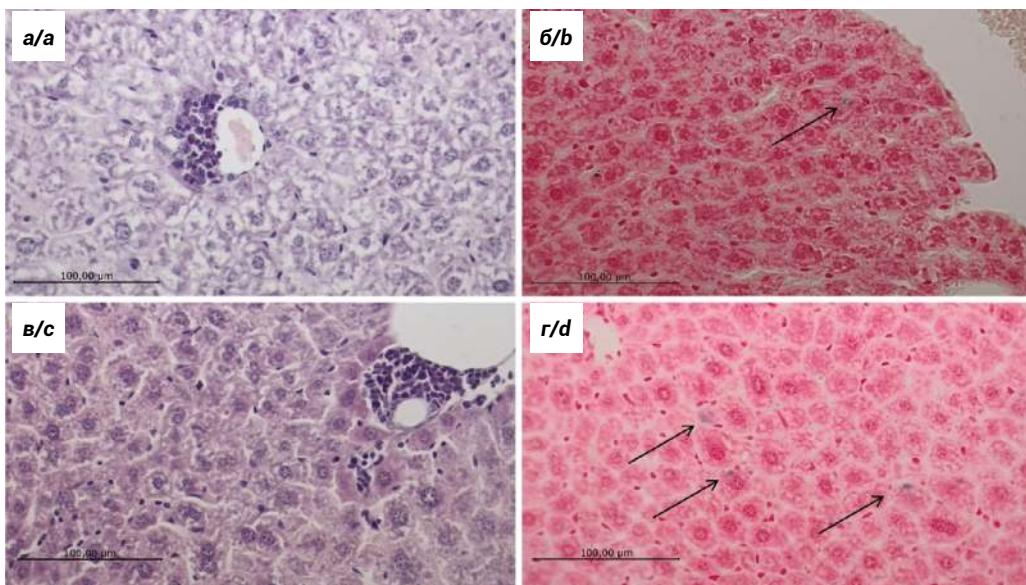


Рис. 1. Гистологическая характеристика печени мышей на 22-е сутки. Окрашивание гематоксилином-эозином (а, в) и по Перлсу (б, г), $\times 400$. а (2-я группа) – гепатоциты с признаками некробиоза, анизоцитоз гепатоцитов, мелкий очаг некроза портального тракта, увеличенные клетки Купфера; б (2-я группа) – единичные Перлс-позитивные клетки (черная стрелка); в (3-я группа) – мелкие очаги некроза вокруг портальных трактов, зернистая дистрофия гепатоцитов, увеличенные клетки Купфера; г (3-я группа) – множественные единичные Перлс-позитивные клетки (черные стрелки).

Fig. 1. Histological characteristics of the liver of mice on day 22. Hematoxylin-eosin (a, c) and Perls staining (b, d), $\times 400$. a (group 2) – hepatocytes with signs of necrobiosis, hepatocyte anisocytosis, small foci of portal tract necrosis, enlarged Kupffer cells; b (group 2) – single Perls-positive cells (black arrow); c (group 3) – small foci of necrosis around the portal tracts, cloudy degeneration of hepatocytes, enlarged Kupffer cells; d (group 3) – multiple single Pearl-positive cells (black arrows).

На 36-е сутки в 3-й группе, относительно контроля и 2-й группы, площадь гепатоцитов увеличивалась в 1,7 ($p<0,001$) и 1,4 ($p<0,05$) раза, площадь ядер гепатоцитов также возрастала в 1,7 ($p<0,05$) и 1,3 ($p<0,05$), площадь цитоплазмы увеличивалась в 2,1 ($p<0,001$) и в 1,4 ($p<0,05$) раза. Доля некротизированных гепатоцитов была повышена на 19% ($p<0,001$) относительно контроля.

Обсуждение

В результате исследования в печени животных 2-й группы, получавших с кормом синтетические НЧФ, на 22-е сут наблюдалась гемодинамические нарушения: гиперемия центральных и междольковых вен, изменение структуры стенок кровеносных сосудов, расширение синусоидных капилляров и наличие в них лейкостазов. Инфильтрацию гистиоцитами, лейкоцитами, лимфоцитами и плазматическими клетками можно рассматривать как реализацию защитных клеточных механизмов организма. Результаты исследования фракционного состава морфологических форм гепатоцитов показали увеличение процента безъядерных клеток, снижение процента двуядерных и увеличение размера общей площади печеночной клетки. Причиной выявленных изменений в органе, вероят-

но, является воспалительный процесс, возникающий при попадании наночастиц в кровоток. Наличие единичных макрофагов в паренхиме печени, имеющих Перлс-позитивные гранулы в цитоплазме, объясняется накоплением гепатоцитами гемосидерина в результате нарушения метаболизма ферритина, вызванного избыточным поступлением синтетических НЧФ.

На 36-е сутки во 2-й группе выявлялось нарушение гистоархитектоники печеночной ткани: гемодинамические нарушения и признаки гидропической дистрофии паренхимы. Скопление макрофагов, имеющих Перлс-позитивные гранулы в цитоплазме вокруг центральных вен, позволяет говорить о накоплении НЧФ синтетического происхождения и их патологическом воздействии в виде нарушения структуры кровеносных сосудов, что приводит к замедлению оттока крови из печени.

В печени животных 3-й группы, получавших перорально вместе с кормом биогенные НЧФ, на 22-е сутки наблюдали такие же морфометрические изменения в органе, как у 2-й группы на 22-е сутки. При этом в паренхиме печени также отмечались множественные макрофаги, имеющие Перлс-позитивные гранулы в цитоплазме. Множественное накопление Перлс-позитивных макрофагов в печени жи-

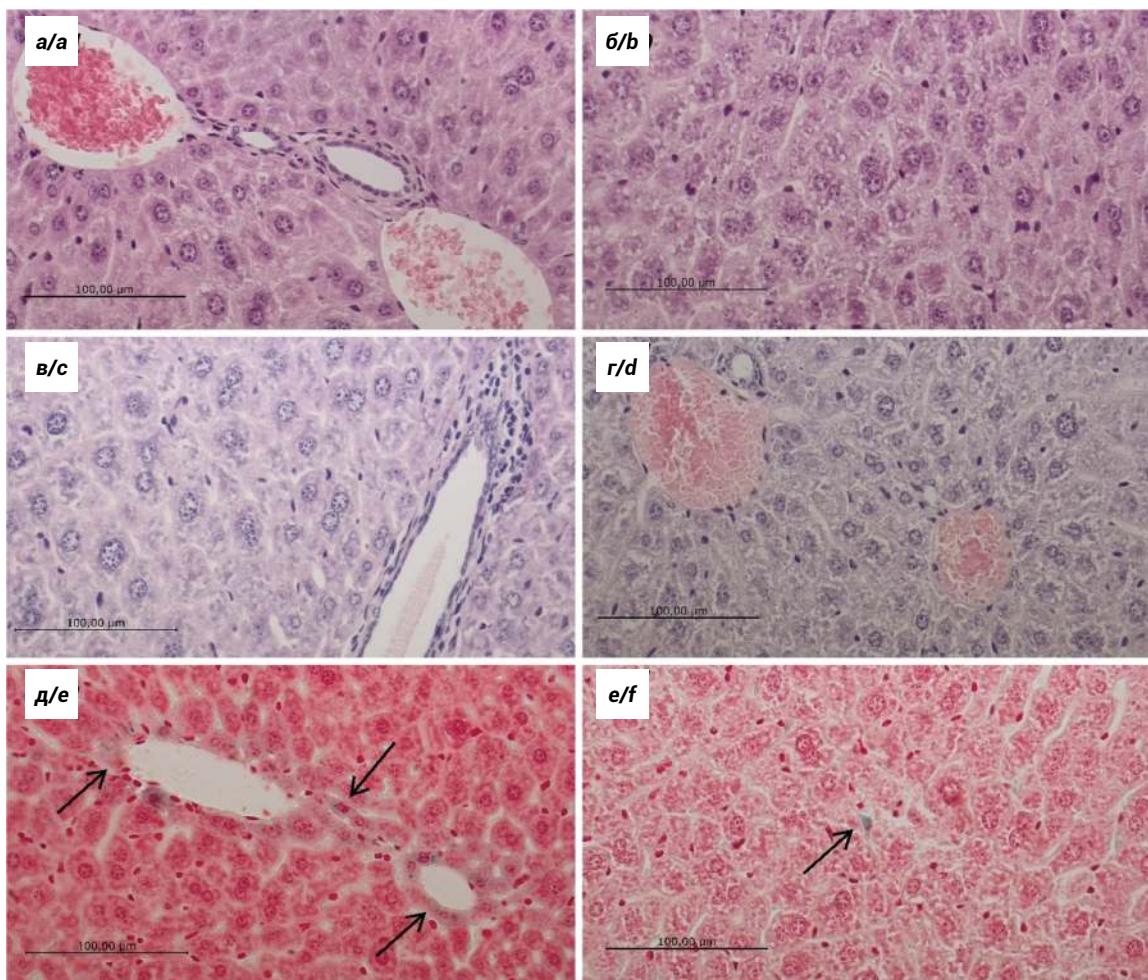


Рис. 2. Гистологическая характеристика печени мышей на 36-е сут. Окрашивание гематоксилином-эозином (а – г) и по Перлсу (д, е), $\times 400$. а (2 группа) – кровенаполнение венозных сосудов печени, лимфогистиоцитарная инфильтрация портальных трактов; б (2-я группа) – некробиотически измененные гепатоциты, анизоцитоз гепатоцитов, в синусоидах увеличенные клетки Купфера, клетки крови, клеточный детрит; в (3-я группа) – лимфогистиоцитарная инфильтрация вокруг портального тракта, гепатоциты с признаками зернистой дистрофии, анизоцитоз гепатоцитов. В синусоидах увеличенные клетки Купфера, клетки крови; г (3-я группа) – кровенаполнение венозных сосудов, некробиотически измененные гепатоциты; д (2-я группа) – вокруг центральных вен отмечаются множественные Перлс-положительные клетки (черные стрелки); е (3-я группа) – единичные Перлс-положительные клетки (черная стрелка).

Fig. 2. Histological characteristics of the liver of mice on day 36. Hematoxylin-eosin (a – d) and Perls (e, f) staining, $\times 400$. a (group 2) – blood filling of the venous vessels of the liver, lymphohistiocytic infiltration of the portal tracts; b (group 2) – necrobiotic altered hepatocytes, hepatocyte anisocytosis, enlarged Kupffer cells in sinusoids, blood cells, cellular detritus; c (group 3) – lymphohistiocytic infiltration around the portal tract, hepatocytes with signs of cloudy degeneration, anisocytosis of hepatocytes. The sinusoids have enlarged Kupffer cells, blood cells; d (group 3) – blood filling of venous vessels, necrobiotically altered hepatocytes; e (group 2) – multiple Pearl-positive cells are noted around the central veins (black arrows); f (group 3) – single Pearl-positive cells (black arrow).

вотных 3-й группы иллюстрирует динамику процесса поглощения НЧФ из сосудистого русла. При этом отмечаются морфологические изменения в гепатоцитах, которые могут быть вызваны как непосредственным влиянием НЧФ на клетки, так и опосредованно – через активацию образования свободных радикалов (вследствие воздействия НЧФ), что приводит к нарушению метаболизма клеток [14, 15].

На 36-е сутки, в 3-й группе отмечались нарушения гистоархитектоники органа, характеризующиеся выраженным некробиотическими изменениями паренхимы печени. Результаты исследования фракционного состава морфологических форм гепатоцитов показали снижение процента двуядерных и одноядерных гепатоцитов, а также высокий процент безъядерных клеток одновременно с увеличени-

Фракционный состав морфологических форм гепатоцитов у мышей при добавлении в корм железосодержащих наночастиц ферригидрита синтетического и биогенного происхождения, $M \pm m$ Fractional content of morphological forms of hepatocytes of the mouse after fodder supplementation with synthetic and biogenic ferrihydrite nanoparticles, $M \pm m$

Параметр Parameter	1 группа (контроль) Group 1 (control)			2 группа (синтетические НЧФ) Group 2 (synthetic FNPs)		3 группа (биогенные НЧФ) Group 3 (biogenic FNPs)	
	1-е сутки 1 day (n=5)	22-е сутки 22 days (n=5)	36-е сутки /36 days (n=5)	22-е сутки 22 days (n=10)	36-е сутки 36 days (n=10)	22-е сутки 22 days (n=10)	36-е сутки 36 days (n=10)
Общая площадь клетки, мкм^2 / Total area of the cell, μm^2	266,0 \pm 32,0	333,3 \pm 51,0	369,2 \pm 62,3	453,9 \pm 48,8 ^{*22}	446,6 \pm 140,8 ^{*1}	421,1 \pm 40,2 ^{*22}	618,0 \pm 79,0 ^{*36, #36}
Площадь ядра, мкм^2 / The area of the nucleus, μm^2	44,8 \pm 4,5	48,9 \pm 9,9	52,6 \pm 24,0	67,2 \pm 13,2 ^{*22}	68,8 \pm 18,3 ^{*1}	61,5 \pm 14,5 ^{*1}	88,0 \pm 12,7 ^{*36, #36}
Площадь цитоплазмы, мкм^2 / Cytoplasm area, μm^2	221,0 \pm 29,5	284,4 \pm 44,3	251,3 \pm 80,8	410,7 \pm 76,4 ^{*22}	377,8 \pm 125,3 ^{*1}	378,0 \pm 124,4 ^{*1}	529,8 \pm 69,1 ^{*36, #36}
Одноядерные гепатоциты, % / Mononucleated hepatocytes, %	43,7 \pm 8,0	44,9 \pm 5,0	45,5 \pm 13,9	31,8 \pm 2,4 ^{*22}	38,5 \pm 2,4	39,5 \pm 4,7 ^{#22}	35,7 \pm 4,7
Двуядерные Гепатоциты, % / Binucleated hepatocytes, %	20,1 \pm 6,3	22,7 \pm 6,2	25,8 \pm 27,2	11,1 \pm 6,5 ^{*22}	14,8 \pm 5,5	11,3 \pm 4,8 ^{*22}	10,6 \pm 3,6 ^{*1}
Безъядерные Гепатоциты, % / Non-nuclear hepatocytes, %	28,1 \pm 7,5	33,9 \pm 1,3	30,3 \pm 7,9	55,4 \pm 6,2 ^{*22}	44,7 \pm 5,5 ^{*36}	47,1 \pm 4,7 ^{*22, #22}	48,9 \pm 9,0 ^{*36}

Примечание. Значимость различий по сравнению с показателями группы контроля: ^{*1}($p<0,05$) на 1-е сут эксперимента, ^{*22}($p<0,05$) на 22-е сутки эксперимента, ^{*36}($p<0,05$) на 36 сутки эксперимента; Значимость различий по сравнению с показателями 2-й группы: ^{#22}($p<0,05$) на 22-е сут эксперимента, ^{#36}($p<0,05$) на 36-е сут эксперимента; n – число животных; НЧФ – наночастицы ферригидрита.

Note. The significance of the differences compared with the indicators of the control group: ^{*1}($p<0.05$) on the 1st day of the experiment, ^{*22}($p<0.05$) on the 22nd day of the experiment, ^{*36}($p<0.05$) on the 36th day of the experiment; The significance of the differences compared with the indicators of the 2nd group: ^{#22}($p<0.05$) on the 22nd day of the experiment, ^{#36}($p<0.05$) on the 36th day of the experiment; n – the number of animals; FNPs – ferrihydrite nanoparticles.

ем общей площади клеток гепатоцитов. Увеличение общей площади клеток неповрежденных гепатоцитов за счет увеличения ядер и цитоплазмы позволяет говорить о полиплоидии. Это указывает на процесс, направленный на улучшение функции неповрежденных гепатоцитов. Полиплоидия позволяет в несколько раз увеличить экспрессию некоторых генов и тем самым усилить определенные метаболические функции неповрежденных гепатоцитов [16]. На 36-е сутки отмечались единичные макрофаги, имеющие Перлс-позитивные гранулы в цитоплазме, в паренхиме печени. Это наблюдение отмечается и в других работах, где так же выявляется провоспалительный эффект с изменением метаболизма в эндотелиальных клетках [17] и увеличением уровней аланин- и аспартатаминотрансфераз в плазме, что вызвано повреждением гепатоцитов [18].

Результаты, полученные в 3-й группе, свидетельствуют о том, что инкапсуляция НЧФ в полисахаридную оболочку не позволяет избавиться от отмечающихся выраженных воспалительных признаков при его воздействии. Все это приводит к значительному снижению количества нормально функционирующих гепатоцитов. Нельзя исключать возможность утраты полисахаридной оболочки

биогенных НЧФ, что повышает интенсивность протекания свободнорадикальных реакций. Выявление в печени макрофагов, имеющих в цитоплазме Перлс-позитивные гранулы, доказывает вовлеченность органа в фармакокинетику НЧФ.

Обнаруженное нами увеличение диаметра желчных протоков может указывать как на выведение НЧФ из печени через желчные пути, так и на нарушение оттока желчи и развитие гипертензии в желчевыводящих путях в результате отека сфинктера Одди под влиянием НЧФ, содержащихся в пище.

Заключение

Таким образом, проведённые исследования показали, что используемые НЧФ синтетического и биогенного происхождения при многократном пероральном введении в организм приводят к паренхиматозным (с повреждением клеток) и стромально-сосудистым (повреждение стромы и стенок сосудов) нарушениям различной интенсивности в тканях печени. Наиболее выраженные патоморфологические изменения в печени, наблюдались у животных, употреблявших пищу с НЧФ биогенного способа получения.

Литература

(п.п. 1–5; 7–12; 14; 15; 17; 18 см. References)

6. Столляр С.В., Ладыгина В.П., Болдырева А.В., Коленчукова О.А., Воротынов А.М., Байрманн М.Ш. и др. Синтез, свойства и тестирование биогенных наночастиц ферригидрита *in vivo*. *Известия Российской академии наук. Серия физическая*. 2020; 84(11): 1601–04. <https://doi.org/10.31857/S0367676520110290>
13. Ладыгина В.П., Пуртов К.В., Столляр С.В., Исхаков Р.С., Баюков О.А., Гуревич Ю.Л. и др. Способ получения наночастиц ферригидрита. Патент Российской Федерации RU2457074C1. 24.03.2011.
16. Андреев В.П., Цыркунов В.М., Кравчук Р.И. Клиническая морфология печени: ядерный аппарат гепатоцитов. *Гепатология и гастроэнтерология*. 2020; 4(2): 126–42. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2020-4-2-126-142>

References

1. Khan U.A., Chen L., Ge G. Recent development for biomedical applications of magnetic nanoparticles. *Inorganic Chemistry Communications*. 2021; 134: 108995. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2021.108995>
2. Meng Y.Q., Shi Y.N., Zhu Y.P., Liu Y.Q., Gu L.W., Liu D.D., et al. Recent trends in preparation and biomedical applications of iron oxide nanoparticles. *Journal of Nanobiotechnology*. 2024; 22: 24. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-02235-0>
3. Shen S., Huang D., Cao J., Chen Y., Zhang X., Guo S., et al. Magnetic liposomes for light-sensitive drug delivery and combined photothermal-chemotherapy of tumors. *Journal of Materials Chemistry B*. 2019; 7(7): 1096–106. <https://doi.org/10.1039/C8TB02684J>
4. Samrot A.V., Sahithya C.S., Selvarani A.J., Purayil S.K., Ponnaiah P. A review on synthesis, characterization and potential biological applications of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*. 2021; 4: 100042. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2020.100042>
5. Aboushoushah S., Alshammari W., Darwesh R., Elbaily N. Toxicity and biodistribution assessment of curcumin-coated iron oxide nanoparticles: Multidose administration. *Life Sciences*. 2021; 277: 119625. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119625>
6. Stolyar S.V., Ladygina V.P., Boldyreva A.V., Kolenchukova O.A., Vorotynov A.M., Bairman M.S., et al. Synthesis, Properties, and *in vivo* Testing of Biogenic Ferrihydrite Nanoparticles. *Izvestiya Rossiyskoy akademii nauk. Серия физическая*. 2020; 84(11): 1366–9. <https://doi.org/10.31857/S0367676520110290> (in Russian)
7. Sathiyarayanan G., Dineshkumar K., Yang Y.H. Microbial exopolysaccharide-mediated synthesis and stabilization of metal nanoparticles. *Critical Reviews in Microbiology*. 2017; 43(6): 731–52. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1306689>
8. Wu L., Wen W., Wang X., Huang D., Cao J., Qi X., et al. Ultrasmall iron oxide nanoparticles cause significant toxicity by specifically inducing acute oxidative stress to multiple organs. *Particle and Fibre Toxicology*. 2022; 19: 24. <https://doi.org/10.1186/s12989-022-00465-y>
9. Kireeva A.V., Kolenchukova O.A., Biryukova E.A., Stolyar S.V. Effect of synthetic and biogenic iron oxide nanoparticles on histopathological parameters of mouse kidneys. *J Evol Biochem Phys*. 2025; 61: 261–72. <https://doi.org/10.1134/S0022093025010211>
10. Singh S.P., Rahman M.F., Murty U.S., Mahboob M., Grover P. (2013) Comparative study of genotoxicity and tissue distribution of nano and micron sized iron oxide in rats after acute oral treatment. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2013; 266(1): 56–66. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2012.10.016>
11. Garcia-Fernandez J., Turiel D., Bettmer J., Jakubowski N., Panne U., Rivas Garcia L., et al. *In vitro* and *in situ* experiments to evaluate the biodistribution and cellular toxicity of ultrasmall iron oxide nanoparticles potentially used as oral iron supplements. *Nanotoxicology*. 2020; 14(3): 388–403. <https://doi.org/10.1080/17435390.2019.1710613>
12. Stolyar S.V., Yaroslavtsev R.N., Bayukov O.A., Balaev D.A., Krasikov A.A., Iskhakov R.S., et al. Preparation, structure and magnetic properties of synthetic ferrihydrite nanoparticles. *Journal of Physics: Conference Series*. 2018; 994(1): 012003. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/994/1/012003>
13. Ladygina V.P., Purtov K.V., Stolyar S.V., Iskhakov R.S., Bayukov O.A., Gurevich Y.L., et al. *Method of producing ferrihydrite nanoparticles. [Способ получения наночастиц ферригидрита]*. Patent RU2457074C1, RF; 2011. (in Russian)
14. Stolyar S.V., Kolenchukova O.A., Boldyreva A.V., Kudryasheva N.S., Gerasimova Y.V., Krasikov A.A., et al. Biogenic ferrihydrite nanoparticles: synthesis, properties *in vitro* and *in vivo* testing and the concentration effect. *Biomedicines*. 2021; 9(3): 323. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9030323>
15. Aboulhoda B.E., Othman D.A., Rashed L.A., Alghamdi M.A., Esawy A.E.W.E. Evaluating the hepatotoxic versus the nephrotoxic role of iron oxide nanoparticles: One step forward into the dose-dependent oxidative effects. *Helijon*. 2023; 9(11): e21202. <https://doi.org/10.1016/j.helijon.2023.e21202>
16. Andreev V.P., Tsyrkunov V.M., Kravchuk R.I. Clinical liver morphology: nuclear apparatus of hepatocytes. *Gepatologiya i gastroenterologiya*. 2020; 4(2): 126–42. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2020-4-2-126-142> (in Russian)
17. Tyumentseva A., Khilazheva E., Petrova V., Stolyar S. Effects of iron oxide nanoparticles on the gene expression profiles of cerebral endothelial cells and astrocytes. *Toxicology in Vitro*. 2024; 98: 105829. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2024.105829>
18. Mohamed E.K., Fathy M.M., Sade, N.A., Eldosoki D.E. The effects of rutin coat on the biodistribution and toxicities of iron oxide nanoparticles in rats. *Journal of Nanoparticle Research*. 2024; 26: 49. <https://doi.org/10.1007/s11051-024-05949-w>

Сведения об авторах:

Киреева Анна Валерьевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. Международного научного центра исследования экстремальных состояний организма ФИЦ КНЦ СО РАН, e-mail: lamp15@bk.ru;

Коленчукова Оксана Александровна, доктор биол. наук, доцент, зав. каф. эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Красноярский ГАУ; вед. науч. сотр. лаб. клеточно-молекулярной физиологии и патологии «НИИ медицинских проблем Севера» ФИЦ КНЦ СО РАН, e-mail: kalina-chyikova@mail.ru;

Бирюкова Елена Антоновна, мл. науч. сотр. лаб. клеточно-молекулярной физиологии и патологии «НИИ медицинских проблем Севера» ФИЦ КНЦ СО РАН, e-mail: helena.biryukova.1996@gmail.com;

Столяр Сергей Викторович, доктор физ.-мат. наук, доцент, нач. Международного научного центра исследований экстремального состояния организма, ФИЦ КНЦ СО РАН; проф. каф. общей физики Института инженерной физики и радиоэлектроники СФУ, e-mail: stol@iph.krasn.ru

Воробьева В.В.¹, Левченкова О.С.², Ленская К.В.¹, Шабанов П.Д.³

Анализ зависимости эндогенного дыхания митохондрий миокарда от физических характеристик вибрации

¹ФГБВОУ «Санкт-Петербургский государственный университет», 199034, Санкт-Петербург, Россия, Университетская набережная, д. 7-9;

²ФГБВОУ «Смоленский государственный медицинский университет», 214019, Смоленск, Россия, ул. Крупской, д. 28;

³ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Санкт-Петербург, Россия, ул. Академика Павлова, д. 12

Введение. Статья посвящена решению задачи качественной и количественной оценки биоэнергетических показателей работы комплекса электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий миокарда экспериментальных животных на фоне воздействия вибрации. Цель исследования – анализ зависимости вибрационно-опосредованных перестроек некоторых показателей тканевого дыхания миокарда от физических характеристик вибрации и обоснование роли биоэнергетической гипоксии в патофизиологических механизмах взаимодействия энергетического обмена ткани и физического фактора.

Методика. Моделирование вибрационно-опосредованных нарушений миокарда у кроликов осуществляли с помощью промышленной установки УВ 70/200. Сеансы общей вибрации с амплитудой 0,5 мм и частотой 8 и 44 Гц проводили ежедневно по 60 мин в утренние часы (с 9.00 до 11.00) в осенне-зимний период.

Изучение скорости эндогенного дыхания митохондрий в составе тканевого гомогената и его чувствительности к ингибиторам (амитал, малонат) осуществляли полярографическим методом с помощью закрытого кислородного датчика гальванического типа (Кларка).

Результаты. Множественное сравнение кинетических показателей функционирования ЭТЦ выявило достоверный эффект действия вибрации с частотой 44 Гц на скорость окисления эндогенных субстратов митохондрий сердца. При содержании белка в ячейке 2,4 мг/мл (стандартное отклонение 0,4), скорость эндогенного дыхания в [нг-атом·О мин⁻¹ мг⁻¹ белка] составляла 16,3 у контрольных животных с преобладанием амиталчувствительного дыхания; 25,9 с признаками доминирования малонатчувствительного дыхания после 21 сеанса; 17,9 после 56 сеансов вибрации. Моделирование градаций метаболических состояний митохондрий с помощью экзогенных субстратов окисления и разобщителя протонофора 2,4-ДНФ подтвердило преимущественную активацию сукцинатзависимой энергетики миокарда в условиях пролонгации вибрационного воздействия.

Заключение. Проведенный анализ изменчивости скорости эндогенного дыхания митохондрий гомогената ткани миокарда показал, что именно взаимодействие нескольких варьируемых характеристик вибрации вносило наиболее весомый и значимый вклад в межгрупповую изменчивость скоростей окисления эндогенных субстратов, выявляя признаки формирования биоэнергетической гипоксии и позволяя анализировать трансформацию энергии первичного физического явления в биологический эффект. Полученные биоэнергетические показатели ($V_{\text{энд}}$, чувствительность эндогенного дыхания к ингибиторам, соотношение малонат- и амиталчувствительности, $V_{\text{як}}$ и $V_{\text{глу+мал}}$, $V_{\text{як-ДНФ}}$ и $V_{\text{глу+мал-ДНФ}}$), отражающие объем макроэргических фосфатов, доступность энергетических метаболитов, количественное соотношение дыхательных ферментов, осуществляющих фосфорилирование АДФ, возможно использовать в качестве переменных величин в адекватных математических моделях.

Ключевые слова: вибрация; митохондрии; энергетический обмен сердца кролика; модель вибрационно-опосредованной гипоксии; математическое моделирование работы электрон-транспортной цепи

Для цитирования: Воробьева В.В., Левченкова О.С., Ленская К.В., Шабанов П.Д. Анализ зависимости эндогенного дыхания митохондрий миокарда от физических характеристик вибрации. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2025; 69(3): 41–51.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.41-51

Участие авторов: дизайн, выполнение экспериментальных исследований, статистическая обработка данных, написание текста статьи – Воробьева В.В.; анализ и интерпретация результатов – Левченкова О.С.; статистическая обработка данных, редактирование – Ленская К.В.; концепция исследования – Шабанов П.Д. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Воробьева Виктория Владимировна, e-mail: v.v.vorobeva@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России FGWG-2025-0020 «Поиск молекулярных мишеней для фармакологического воздействия при аддиктивных и нейроэндокринных нарушениях с целью создания новых фармакологически активных веществ, действующих на рецепторы ЦНС».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 27.05.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Vorobieva V.V.¹, Levchenkova O.S.², Lenskaya K.V.¹, Shabanov P.D.³

Analysis of the dependence of myocardial mitochondria endogenous respiration on physical characteristics of vibration

¹Saint Petersburg State University, 7-9 Universitetskaya Naberezhnaya, Saint Petersburg, 199034, Russian Federation;

²Smolensk State Medical University, 28 Krupskoy St., Smolensk, 214019, Russian Federation;

³Institute of Experimental Medicine, 12 Akademika Pavlova St., Saint Petersburg, 197376, Russian Federation

Introduction. The article addresses the problem of qualitative and quantitative assessment of the electron transport chain (ETC) bioenergetics of myocardial mitochondria in experimental animals exposed to vibration. **The aim** of the study was to analyze the dependence of vibration-mediated changes in some parameters of myocardial tissue respiration on vibration physical characteristics and to justify the role of bioenergetic hypoxia in pathophysiological mechanisms of the interaction of tissue energy metabolism and a physical factor.

Methods. The endogenous mitochondrial respiration rate and sensitivity to inhibitors (amytal, malonate) in tissue homogenate were studied by polarography using a closed galvanic oxygen sensor (Clark).

Results. Multiple comparison of the ETC kinetics revealed a significant effect of 44 Hz frequency vibration on the endogenous substrate oxidation rate in myocardial mitochondria. With a cell protein concentration of 2,4 mg/ml (standard deviation 0,4), the endogenous respiration rate in [ng-atom·O min⁻¹ mg⁻¹ protein] was 16,3 in control animals with predominating amytal-sensitive respiration; 25,9 with predominating malonate sensitive respiration after 21 sessions; and 17,9 after 56 vibration sessions. Modeling of mitochondrial metabolic state gradations using exogenous oxidation substrates and the 2,4-DNF protonophore disassembler confirmed the preferential activation of succinate-dependent myocardial energetics under the conditions of prolonged vibration exposure.

Conclusion. The analysis of the endogenous respiration rate in myocardial homogenate mitochondria showed that specifically the interaction of several variable characteristics of vibration most significantly contributed to the intergroup variability of endogenous substrate oxidation rates. This interaction revealed signs of bioenergetic hypoxia and allowed analyzing the transformation of energy of the primary physical phenomenon into a biological effect. The obtained bioenergetic parameters (V_{end}, endogenous respiration sensitivity to inhibitors; malonate to amytal sensitivity ratio; V_{sa} and V_{glu+mal}; V_{sa-c} and V_{glu+mal-c}), that reflect the volume of high-energy phosphates, availability of energy metabolites, and the quantitative ratio of respiratory enzymes that perform ADP phosphorylation, can be used as variables in adequate mathematical models.

Keywords: vibration; mitochondria; energy metabolism of the rabbit heart; model of vibration-mediated hypoxia; mathematical model of the electron transport chain

For citation: Vorobieva V.V., Levchenkova O.S., Lenskaya K.V., Shabanov P.D. The dependence analysis of myocardial mitochondria endogenous respiration on physical characteristics of the vibration. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological physiology and experimental therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(3): 41–51. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.41-51

Authors' contribution: design, conducting of experimental studies, statistical data processing, writing of the article – Vorobieva V.V.; analysis and interpretation of results – Levchenkova O.S.; statistical data processing, editing the text – Lenskaya K.V.; study concept – Shabanov P.D. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: Victoria V. Vorobieva, e-mail: v.v.vorobieva@mail.ru

Information about the authors:

Vorobieva V.V., <https://orcid.org/0000-0001-6257-7129>

Levchenkova O.S., <https://orcid.org/0000-0002-9595-6982>

Lenskaya K.V., <https://orcid.org/0000-0002-6407-0927>

Shabanov P.D., <https://orcid.org/0000-0003-1464-1127>

Financing. The work was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Education and Science of Russia FGWG-2025-0020 "Search for molecular targets for pharmacological action in addictive and neuroendocrine disorders in order to create new pharmacologically active substances acting on CNS receptors"

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

Received 27.05.2025

Accepted 25.08.2025

Published: 30.09.2025

Введение

Ежегодно в мире регистрируется примерно 160 млн случаев профессиональных заболеваний, около 10% из которых завершаются формированием необратимых нарушений здоровья. Основными рисками для здоровья являются тяжесть и напряжённость трудовой деятельности, производственные химические и физические факторы. Согласно эпидемиологическим данным среди работников, длительно (годы) контактирующих с вибрацией в ходе профессиональной деятельности, различные виды патологии сердца встречаются чаще, чем в популяционных группах, сходных по возрасту и полу [1].

Процесс взаимодействия собственного электромеханического ритма функционирования клеточных и субклеточных структур сердца [2] с периодически изменяющимися механодеформирующими силами вибрации [3] формирует результирующие векторы, повреждающие мембранны клетки и другие органеллы. Объективными индикаторами подобного деструктивного воздействия могут служить многочисленные тканевые биомаркеры: циркулирующие биомаркеры PICP и СИТР (С-концевые пропептиды проколлагена и коллагена I типа), РИИНР (N-концевой пропептид проколлагена III типа); уровни креатинфосфокиназы, металлопротеиназы ММП-9 (матриксная металлопротеиназа-9), TIMP-1 (тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ), галектина-3, GDF-15, sST2, микроРНК, РСР и РНР (карбокси- и аминопропептиды проколлагена), СТР-1 (С-телопептид коллагена I) [4]. Вибрационные колебания вмешиваются в собственные колебательные процессы сердечно-сосудистой системы [5], изучение которых также нашло отражение в решении нестационарных математических уравнений гидродинамики для класса смерчеобразных закрученных потоков вязкой жидкости [6].

Стрессирующее воздействие вибрации вызывает гиперреактивацию симпатико-адреналовой, ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [7], системы эндотелина, цитокинов, продукции оксида азота и перекисного окисления липидов, натрийуретического пептида и завершается развитием, так называемого, миокардиального стресса левого желудочка сердца [1]. Несмотря на достаточную изученность предикторов патофизиологических изменений в сердечно-сосудистой системе при вибрационной болезни, до конца не известны биофизические зависимости между амплитудой, частотой, длительностью

дозированного вибрационного воздействия в диапазоне резонансных частот и выраженностью изменений окислительно-восстановительных процессов в виброчувствительных органах, в частности, в сердце [8].

Цель исследования заключается в анализе вибрационно-опосредованных перестроек энергетического обмена миокарда кролика на основе изучения динамики изменений скорости эндогенного дыхания митохондрий ткани миокарда и его чувствительности к ингибиторам дыхательной цепи в зависимости от физических характеристик вибрации (частоты и длительности).

Методика

Лабораторные животные. Эксперименты проведены на кроликах-самцах ($n=50$) породы Шиншилла массой 2,5-3кг. Выбор биологической модели (кролик) обусловлен многими факторами, в частности, тем фактом, что слепки полости левого желудочка сердца человека, собак и кролика сходны по структуре трабекул диастолической и систолической группы [6], и, поэтому, механический блок работы левого желудочка у вышеназванных видов описывается близкими математическими моделями. В подобных математических моделях миокард рассматривается как трансверсально-изотропная несжимаемая сплошная среда, генерирующая пассивные и активные напряжения в ответ на деформацию, что позволяет провести анализ взаимосвязей между напряжением и деформациями, концентрациями химических веществ, энергетическим потенциалом клеток и механическими смещениями сократительных белков [9].

Содержание животных и эксперименты проводили в соответствии с нормами и правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986 г. с приложением А от 2006 г.). Кроликов помещали по одному в стандартные клетки из нержавеющей стали и содержали на протяжении всего экспериментального периода в условиях вивария, на стандартном рационе при температуре воздуха 18–20°C со свободным доступом к корму и питьевой воде.

Моделирование вибрационно-опосредованных нарушений миокарда у кроликов. Действие общей вертикальной вибрации осуществляли с помощью промышленной установки УВ 70/200, позволяющей настраивать вибра-

ционные колебания с различными физическими характеристиками. Исходя из того, что величина колебательной энергии, поглощенной телом человека или животного (Q) при контакте с источником вибрационных колебаний, прямо пропорционально площади контакта (S), времени воздействия (T) и интенсивности раздражителя [10], были выбраны несколько режимов вибрационного воздействия с различной частотой и длительностью. Предпосылкой к выбору частотных характеристик явился тот факт, что наиболее отрицательным эффектом воздействия обладают резонансные частоты, диапазон которых для тканей и органов теплокровных животных и человека находится в интервале от 1 до 200 Гц [11]. Сеансы общей вибрации с амплитудой 0,5 мм и частотой 8 и 44 Гц проводили ежедневно по 60 мин в утренние часы (с 9.00 до 11.00) в осенне-зимний период.

Схема эксперимента. Были сформированы семь экспериментальных групп животных: группа интактных контрольных животных и группы животных, подвергавшихся воздействию вибрации с частотой 8 Гц по 7, 21, 56 сеансов и 44 Гц по 7, 21 и 56 сеансов.

На фоне легкого эфирного наркоза животных подвергали эвтаназии методом воздушной эмболии в ушную артерию 5 мл воздуха, вскрывали грудную клетку, быстро извлекали сердце и помещали в солевую среду фиксированного состава, охлажденную до 0°C [12]. Кусочки верхушки сердца (250–300 мг) гомогенизировали в калиброванном гомогенизаторе Даунса из кварцевого стекла с тефлоновым пестиком при соотношении «среда выделения» : «ткань» = 1:2 и получали 30%-ный гомогенат, содержащий нативные митохондрии, согласно методическим рекомендациям, предложенными М.Н. Кондрашовой [13].

Время забора ткани, гомогенизации и инкубации были стандартизованы таким образом, чтобы с момента забора ткани до окончания полярографического измерения показателей активности митохондрий проходило не более 40 мин с целью обеспечения адекватности статуса митохондрий *in vitro* их «нативному» состоянию, максимально приближенному к *in vivo*.

Изучение функциональной активности клеточных систем энергопродукции ткани миокарда *in vitro*. Активность нативных митохондрий сердца изучали полярографическим методом [14] с помощью кислородного электрода типа Кларка. Полярографическая измерительная установка, в соответствии с требованиями метода состояла из электрода, ячейки с перемешивающим стержнем, термостатируемого кожуха, водяного термостата I ТЖ-0 03 (Россия), магнитной мешалки ММ-ЗМ (Россия), самописца LKB Bromma 2210 2-Channel Recorder (Швеция).

Скорость дыхания митохондрий (V) в среде инкубации выражали в [нг-атом·Омин⁻¹мг⁻¹белка]. Вклад в эндогенную дыхательную активность митохондрий NADH- и FADH-зависимых субстратов оценивали по данным ингибиторного анализа с амиталом натрия (Serva, Германия) или малонатом (Реахим, Россия) по 2мМ, так как при данной концентрации ингибиторов препараты, полученные от животных, подвергнутых разным воздействиям, дифференцировались наиболее четко.

Путем введения в полярографическую ячейку экзогенного субстрата митохондрий переводили в состояние субстратного дыхания (состояние «покоя»). В качестве NADH- зависимого субстрата применяли смесь глутамата и малата по 3мМ, в качестве FADH- зависимого субстрата – янтарнокислый натрий – до 1мМ. Скорость субстратного дыхания ($V_{як}$ и $V_{глу+мал}$) в митохондриях ткани сердца интактных животных выше, чем эндогенного и зависит от проницаемости мембран для субстрата, способности ферментного комплекса окислять данный субстрат и готовности последующих участков дыхательной цепи транспортировать электроны к кислороду. Экзогенные энергетические субстраты способны регулировать функциональную активность митохондрий, стимулируя фракцию дыхательной цепи, через которую транспортируются электроны после их собственного окисления. Приём стимуляции эндогенного дыхания экзогенным субстратом используется для оценки перехода митохондрий в метаболическое состояние «покоя». Отсутствие стимуляции указывает на регуляторное угнетение или отключение, даже возможно, на повреждение соответствующего звена дыхательной цепи.

Через 60 секунд субстратного дыхания в ячейку вводили протонофор 2,4-ДНФ до общепринятой разобщающей концентрации 20 мкМ, тем самым ликвидируя электрохимический потенциал мембранны, нарушая синтез АТФ и его регулирующее влияние в пунктах сопряжения дыхания с фосфорилированием. Протонофор 2,4-ДНФ разобщает все точки сопряжения в ЭТЦ, увеличивая уровень АДФ и снижая содержание АТФ за счет активизации АТФ-азы. При этом *in vitro* создается высокая функциональная нагрузка на дыхательную цепь, соответствующая «активному» состоянию митохондрий. Степень сопряжения окисления и фосфорилирования препарата нативных митохондрий пропорциональна ответной реакции (величине ускорения дыхания) на разобщитель, что позволяет косвенно оценить уровень энергетической регуляции при функционировании данного участка дыхательной цепи и отразить в виде показателей $V_{як-ДНФ}$ и $V_{глу+мал-ДНФ}$.

Концентрацию белка в гомогенате измеряли модифицированным микробиуретовым экспресс-методом, который обладает высокой специфичностью, чувствительностью, не зависит от аминокислотного состава белка и ха-

рактеризуется линейной связью между концентрацией белка и интенсивностью окраски проб в широком диапазоне концентраций.

Статистическая обработка результатов. Статистическую обработку данных проводили поэтапно с помощью пакета прикладных программ «Stat Soft Statistica 6.0» (США) с использованием модуля ANOVA/MANOVA [15, 16]. Для того, чтобы доказать открытость митохондриальной системы миокарда к воздействию вибрации, варьировали ее характеристики, создавая различные виды комбинаций. Оценку множественности связей и направленности взаимодействий между показателями-отклика-ми энергетического обмена ткани в неполном цикле метаболических градаций «покой-разобщение» и внешними факторами (тестирующие воздействия в эксперименте), осуществили с помощью многомерного факторного анализа методом главных компонент [17], что позволило охватить все факторное пространство (полный набор комбинаций уровней всех факторов, доступных для учета в наших исследованиях) (табл. 1).

Результаты

Известно, что скорость эндогенного дыхания митохондрий ($V_{\text{энд}}$) *in vitro* обусловлена окислением доступных энергетических субстратов, присутствующих в ткани на момент получения гомогената. Показатели скорости эндогенного дыхания и чувствительности к ингибиторам электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) нативных митохондрий миокарда интактных контрольных животных при содержании белка в ячейке 2,4(0,4) мг/мл представлены в табл. 2.

Скорость $V_{\text{энд}}$ в гомогенате миокарда преимущественно зависит от потока электронов через два функционально наиболее важных звена ЭТЦ – фермент-субстратный

комплекс I (NADH-зависимый) и комплекс II (FADH-зависимый). Амитал (5-Этил-5-изоамилбарбитуровая кислота), являясь обратимым блокатором сайтов связывания убихинона, угнетает окисление NADH-зависимых субстратов, нарушая поток электронов на уровне I фермент-субстратного комплекса ЭТЦ; величина чувствительности $V_{\text{энд}}$ к амиталу пропорциональна активности этого участка и вкладу эндогенных субстратов, окисляющихся по этому пути [18]. Малонат – абсолютный специфический ингибитор сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и «отсекает» ту часть эндогенного дыхания, которая определяется вкладом янтарной кислоты.

Исходно у контрольных животных наблюдали преобладание амиталчувствительного дыхания над малонатчувствительным (табл. 2, показатель A_1), что обусловлено преимущественным вкладом свободных жирных кислот в эндогенную окислительную активность сердца всех млекопитающих, функциональный диапазон которого обеспечивается энергией за счет окислительного фосфорилирования.

Скорость окисления эндогенных энергетических субстратов нативными митохондриями миокарда, чувствительность эндогенного дыхания к ингибиторам и их соотношение явились параметрами отклика на действие независимых контролируемых факторов общей вибрации различной длительности и частоты 8 Гц (табл. 2) и 44 Гц (табл. 3).

Целенаправленный поиск зависимостей в совокупности экспериментальных данных предполагает исследование значимости различий в средних значениях показателей скорости эндогенного дыхания. Значимость различий (p) на разных уровнях варьирования факторов вибрации А-В в методе наименьшей значимости разности Фишера по критерию множественного сравнения LSD колебалась

Таблица 1/Table 1

Уровни варьирования изучаемых в эксперименте факторов общей вертикальной вибрации (факторы А, В) и их комбинации (А, В)
Variation levels of the factors of wholebody vertical vibration studied in the experiment (factors A, B) and their combinations (A, B)

Характеристики общего вертикального вибрационного воздействия / Characteristics of the wholebody vertical vibration action	
Частота ОВВ в Гц / WBVV frequency in Hz	Количество сеансов ОВВ по 60 мин ежедневно / Number of 60 min daily sessions of WBVV
A_1 – отсутствие вибрации / A_1 – no vibration	B_1 – 7 сеансов / B_1 – 7 sessions
A_2 – вибрация 8 Гц / A_2 – vibration 8 Hz	B_2 – 21 сеанс / B_2 – 21 sessions
A_3 – вибрация 44 Гц / A_3 – vibration 44 Hz	B_3 – 56 сеансов / B_3 – 56 sessions

Примечание. ОВВ – общая вертикальная вибрация; при всех сочетаниях изучаемых факторов амплитуда вибрации составляла 0,5 мм.

Note. WBVV – whole body vertical vibration; at all combinations of the studied factors the vibration amplitude was 0.5 mm.

Таблица 2/Table 2

Параметры эндогенного дыхания нативных митохондрий миокарда у контрольных и подвергнутых вибрации животных при изменении факторов общей вертикальной вибрации с частотой 8 Гц

Endogenous respiration parameters of native myocardial mitochondria in control and vibration-subjected animals under changing of wholebody vertical vibration factors with a frequency of 8 Hz

Факторы вибрации Vibration factors		n	$\frac{V_{\text{энд}}}{V_{\text{энд}}^*} M (s)$	Чувствительность эндогенного дыхания к ингибиторам в % Sensitivity of endogenous respiration to inhibitors in %		Соотношение между малонат- и амитал-чувствительностью Ratio between malonate and amytal sensitivity
Частота, Гц (A) Frequency, Hz (A)	Количество сеансов вибрации (B) / Number of vibration sessions (B)			Малонат / malonate	Амитал / amytal	
0 (A ₁)	0	10	16,3 (4,4)	15,9 (6,1)	33,6 (8,9)	0,47
8 (A ₂)	7 (B ₁)	6	16,3 (3,2)	40,0 (15,8)	47,6 (19,0)	0,84
8 (A ₂)	21(B ₂)	6	18,8 (5,2)	55,4 (7,2)	26,4 (8,5)	2,09
8 (A ₂)	56(B ₃)	7	23,4 (5,7)	31,2 (5,7)	22,4 (10,2)	1,4

Примечание. A₁ – контрольная группа; n – количество животных в исследуемой группе; M (s) – среднее значение показателя по выборке скорости эндогенного дыхания митохондрий в гомогенате миокарда ($V_{\text{энд}}$) в [нг·атом·Омин⁻¹мг⁻¹белка], s – стандартное отклонение; содержание белка в ячейке – 2,4(0,4) мг/мЛ.

Note. A₁ – control group; n – number of animals in groups; M (s) – mean value over the sample of endogenous mitochondrial respiration rates in myocardial homogenate ($V_{\text{энд}}$) in [ng·atom·Omin⁻¹mg⁻¹protein], s – standard deviation; protein content in the cell – 2.4(0.4) mg/mL.

Таблица 3/Table 3

Параметры эндогенного дыхания нативных митохондрий миокарда у контрольных и подвергнутых вибрации животных при изменении факторов общей вертикальной вибрации с частотой 44 Гц

Endogenous respiration parameters of native myocardial mitochondria in control and vibration-subjected animals under changing of wholebody vertical vibration factors with a frequency of 44 Hz

Факторы вибрации Vibration factors		n	$\frac{V_{\text{энд}}}{V_{\text{энд}}^*} M (s)$	Чувствительность эндогенного дыхания к ингибиторам в % Sensitivity of endogenous respiration to inhibitors in %		Соотношение между малонат- и амитал-чувствительностью Ratio between malonate and amytal sensitivity
Частота, Гц (A) / Frequency Hz (A)	Количество сеансов вибрации (B) Number of vibration sessions (B)			Малонат / Malonate	Амитал / amytal	
0 (A ₁)	0	10	16,3 (4,6)	15,9 (6,1)	33,6 (8,9)	0,47
44 (A ₃)	7 (B ₁)	5	22,6 (5,2)	29,2(7,5)	25,1(9,7)	1,2
44 (A ₃)	21(B ₂)	9	25,9 (6,7)	70,6(6,2)	49,2(12,9)	1,43
44 (A ₃)	56(B ₃)	6	17,9 (5,8)	66,8(6,6)	49,4(14,2)	1,35

Примечание. A₁ – контрольная группа; n – количество животных в исследуемой группе; M (s) – среднее значение показателя по выборке скорости эндогенного дыхания митохондрий в гомогенате миокарда ($V_{\text{энд}}$) в [нг·атом·Омин⁻¹мг⁻¹белка], s – стандартное отклонение; содержание белка в ячейке – 2,4(0,4) мг/мЛ.

Note. A₁ – control group; n – number of animals in groups; M (s) – mean value over the sample of endogenous mitochondrial respiration rates in myocardial homogenate ($V_{\text{энд}}$) in [ng·atom·Omin⁻¹mg⁻¹protein], s – standard deviation; protein content in the cell – 2.4(0.4) mg/mL.

от 0,024 для сочетания факторов A₂–B₃ и A₂–B₁ до 0,006 для сочетания факторов A₃–B₂ и A₃–B₃. Несмотря на кажущуюся идентичность показателей скорости эндогенного дыхания нативных митохондрий сердца кроликов на некоторых уровнях воздействия вибрации (табл. 2, 3), по данным ингибиторного анализа по критерию множественного сравнения LSD, препараты гомогенатов ткани оказались дифференцированными (табл. 4) с высокой значимостью различий (p) средних значений.

Сопоставление показателей амитал- и малонатчувствительности позволило высказать предположение, что при большинстве сочетаний уровней факторов вибрации чувствительность показателя $V_{\text{энд}}$ к малонату превышала чувствительность к амиталу и возрастала по мере накопления вибрационной дозы в большей степени, чем чувствительность к амиталу.

Для определения весомости параметров отклика и дальнейшего обоснования интегральной характеристики

состояния системы энергопродукции миокарда экспериментальных животных в условиях воздействия вибрации необходимо было количественно оценить ответ исследуемых выходных параметров тканевой биоэнергетики ($V_{энд}$ – малонат- и амиталчувствительность) миокарда на факторы вибрации с точки зрения их информативности и значимости. Согласно результатам дисперсионного анализа по одной из его разновидностей – матрице полного факторного эксперимента, в величине, значимости и информативности эффектов исследованных факторов вибрации по совокупности их действия на параметры-отклики выявились существенные отличия.

В ряду показателей $V_{энд}$ и чувствительности к малонату значимыми ($p \leq 0,05$) оказались эффекты контроли-

руемых факторов (частоты вибрации и количества сеансов) и эффекты их взаимодействия А·В. Они обусловили большую часть дисперсии. Количественно это выразилось в том, что влияние совокупности контролируемых факторов на изменчивость дисперсии $V_{энд}$ и малонатчувствительности определилось на уровне 52,8% и 78,5%, соответственно, и превысило вклад случайных факторов. В противоположность этому, на дисперсию показателя амиталчувствительности достоверно влияло только сочетание факторов А·В вибрации, тогда как вклад случайных факторов более, чем в 2 раза, превышал вклад контролируемых. Коэффициенты регрессии для $V_{энд}$ и малонатчувствительности оказались статистически значимыми ($p \leq 0,0057$), в отличие от амиталчувствительности ($p > 0,188$).

Таблица 4/Table 4

Вклад факторов вибрации и их взаимодействия в дисперсию параметров эндогенного дыхания нативных митохондрий миокарда
Contribution of vibration factors and their interactions to the dispersion of endogenous respiration parameters of native myocardial mitochondria

Параметр-отклик Parameter-response	Факторы вибрации Vibration factors	SS	df	MS	F	p	K, %
$V_{энд} / V_{энд}$	A	361,4	2	180,7	8,487	0,001	25,2
	B	193,5	2	96,7	4,543	0,017	12,4
	A·B	237,6	4	59,4	2,789	0,041	15,2
	Контролируемые Controlled	792,5					52,8
	Неконтролируемые Uncontrolled	766,6	36	21,29	–	–	49,2
Чувствительность к малонату Sensitivity to malonate	A	6976,8	2	3488,37	33,62	0,0000	40,0
	B	4026,3	2	2013,17	19,4	0,0000	23,0
	A·B	2703,1	4	675,78	6,54	0,0005	15,5
	Контролируемые Controlled	13706,2					78,5
	Неконтролируемые Uncontrolled	3735,3	36	103,76	–	–	21,5
Чувствительность к амиталу Sensitivity to amytal	A	716,6	2	358,28	1,137	0,33	4,5
	B	13,06	2	6,53	0,021	0,949	0,08
	A·B	3773,2	4	943,29	2,99	0,031	23,8
	Контролируемые Controlled	4502,8					28,38
	Неконтролируемые Uncontrolled	11340,0	36	315,0	–	–	71,6

Примечание. А – частота вибрации в Гц; В – количество сеансов вибрации по 60 мин ежедневно; SS – сумма квадратов отклонений параметра-отклика от среднего значения, обусловленная влиянием фактора; df – число степеней свободы; MS – дисперсии; F – критерий Фишера; p – уровень значимости; K – степень влияния факторов вибрации на параметры-отклики. Дисперсии анализируемых признаков в группах, определяемых факторами, проверяли по тестам Левена и Брауна-Форсайта ($p > 0,05$).

Note. A – WBVV frequency in Hz; B – Number of 60 min daily sessions of WBVV; SS – sum of deviation squares of the parameter-response from the mean value due to the influence of the factor; df – degrees of freedom; MS – dispersions; F – Fisher's criterion; p – significance level; K – degree of influence of vibration factors on the parameters-responses. The dispersions of the analyzed features in the groups determined by the factors were checked by Levene's and Brown-Forsythe tests ($p > 0,05$).

Таблица 5/Table 5

Скорости окисления экзогенных субстратов в состоянии покоя и функциональной активности митохондрий миокарда на разных уровнях варьирования фактора частоты вибрации (фактора А)

Rates of oxidation of exogenous substrates in the resting state and functional activity of myocardial mitochondria at different levels of variation of the vibration frequency factor (factor A)

Показатель скорости дыхания митохондрий Mitochondrial respiration rate index	Контроль (фактор А ₁) Control (factor A1)	Вибрация 8 Гц (фактор А ₂) Vibration 8 Hz (factor A2)	Вибрация 44 Гц (фактор А ₃) Vibration 44 Hz (factor A3)
$V_{\text{энд}} / V_{\text{енд}}$	16,3 ± 4,6	23,4 ± 5,7	17,9 ± 5,8
$V_{\text{глю+мал}} / V_{\text{глю+мал}}$	22,7 ± 5,0	14,3 ± 2,0	31,8 ± 8,0 *
$V_{\text{глю+мал-ДНФ}} / V_{\text{глю+мал-ДНФ}}$	48,2 ± 1,6	35,5 ± 6,4	41,0 ± 8,8
$V_{\text{як}} / V_{\text{succinate}}$	34,3 ± 7,6	33,5 ± 5,3	47,5 ± 6,7 *
$V_{\text{як-ДНФ}} / V_{\text{succinate-DNP}}$	37,7 ± 5,6	50,5 ± 8,2	55,3 ± 4,2 *

Примечание. $V_{\text{глю}}$ – скорость дыхания митохондрий миокарда в гомогенате, выраженная в [нг-атом·Омин⁻¹·мг⁻¹белка], при добавлении в полярографическую ячейку NADH-зависимых субстратов в состоянии «покоя»; $V_{\text{глю+мал-ДНФ}}$ – скорость дыхания на NADH-зависимых субстратах в состоянии «активности» на фоне введения протонофора 2,4-ДНФ до разобщающей окислительное фосфорилирование концентрации 20 мкМ; $V_{\text{як}}$ – скорость дыхания митохондрий при добавлении в ячейку FADH-зависимого субстрата в состоянии «покоя»; $V_{\text{як-ДНФ}}$ – скорость дыхания на FADH-зависимом субстрате в состоянии «активности» митохондрий кардиомиоцитов; NADH-восстановленная форма никотинамидадениндинуклеотида; FADH-восстановленная форма flavинадениндинуклеотида * – $p \leq 0,05$ – статистически значимые различия между группами контрольных и подвергнутых вибрации животных.

Note. $V_{\text{глю}}$ – the rate of respiration of myocardial mitochondria in the homogenate, expressed in [ng-atom·Omin⁻¹ mg⁻¹ protein], upon addition of NADH-dependent substrates to the polarographic cell in the “resting” state; $V_{\text{глю+мал-ДНФ}}$ – the rate of respiration on NADH-dependent substrates in the “active” state against the background of the introduction of the protonophore 2,4-DNP to a concentration of 20 μ M that uncouples oxidative phosphorylation; $V_{\text{succinate}}$ – the rate of mitochondrial respiration upon addition of a FADH-dependent substrate to the cell in the “resting” state; $V_{\text{succinate-DNP}}$ – the rate of respiration on a FADH-dependent substrate in the “active” state of cardiomyocyte mitochondria; NADH-reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide; FADH-reduced form of flavin adenine dinucleotide * – $p \leq 0.05$ – statistically significant differences between the groups of control and vibration-exposed animals.

Подтверждение преимущественной активации сукцинатзависимой энергетики миокарда в условиях пролонгации вибрационного воздействия было доказано благодаря моделированию градаций метаболических состояний митохондрий с помощью экзогенных субстратов окисления и разобщающего протонофора 2,4-ДНФ до разобщающей окислительное фосфорилирование концентрации 20 мкМ (табл. 5). В митохондриях миокарда контрольных животных скорости окисления NADH-зависимых субстратов (по абсолютным значениям) в состоянии «покоя» и «активности» независимо от частоты были ниже, чем скорости окисления янтарной кислоты (сукцинатом). Динамика показателей сукцинатоксидазной активности митохондрий ($V_{\text{як}}$, $V_{\text{як-ДНФ}}$) весомо и достоверно откликалась на частотный фактор. Темпы окисления янтарной кислоты митохондриями в состоянии «покоя» и «активности» на фоне вибрации 44 Гц, превосходили скорости окисления этого субстрата при 8 Гц, свидетельствуя о гиперактивации сукцинатзависимой энергопродукции кардиомиоцитов в процессе суммации эффектов пролонгированной вибрации.

В условиях варьирования длительности воздействия вибрации на трех уровнях (B_1 , B_2 , B_3) скорости окисления янтарной кислоты в состоянии покоя ($V_{\text{як}}$) увеличивались по сравнению с контролем к 56 сеансу на 24,4%, тогда как скорость окисления глутамата ($V_{\text{глю+мал}}$) к 56 сеансу уменьшалась на 26,5%. Обобщенный результат анализа

кинетических показателей функции митохондрий с привлечением дисперсионного анализа выявил, что по мере накопления вибрационной дозы происходило угнетение окисления NADH-зависимых субстратов митохондрий и активация, так называемой, сукцинатзависимой энергопродукции кардиомиоцитов (рис.), что соответствует признакам формирования митохондриальной дисфункции по I-II типу биоэнергетической гипоксии [19].

На фоне усиления вибрационного воздействия процессы утилизации янтарной кислоты во втором фермент-субстратном комплексе характеризовались большей устойчивостью и интенсивностью, подтверждая гла-венствующую адаптивную роль FADH-зависимого участка ЭТЦ митохондрий. Следовательно, удалось не только доказать трансформацию энергии вибрационных колебаний в биологический ответ, но и выявить суть данного ответа – формирование универсального механизма перестройки энергетического обмена клетки в виде биоэнергетической гипоксии [20].

Заключение

Проведенный анализ зависимости эндогенного дыхания митохондрий миокарда от физических характеристик вибрации подтверждает их высокую чувствительность к воздействию данного физического фактора. Представленные результаты исследования показали, что на уров-

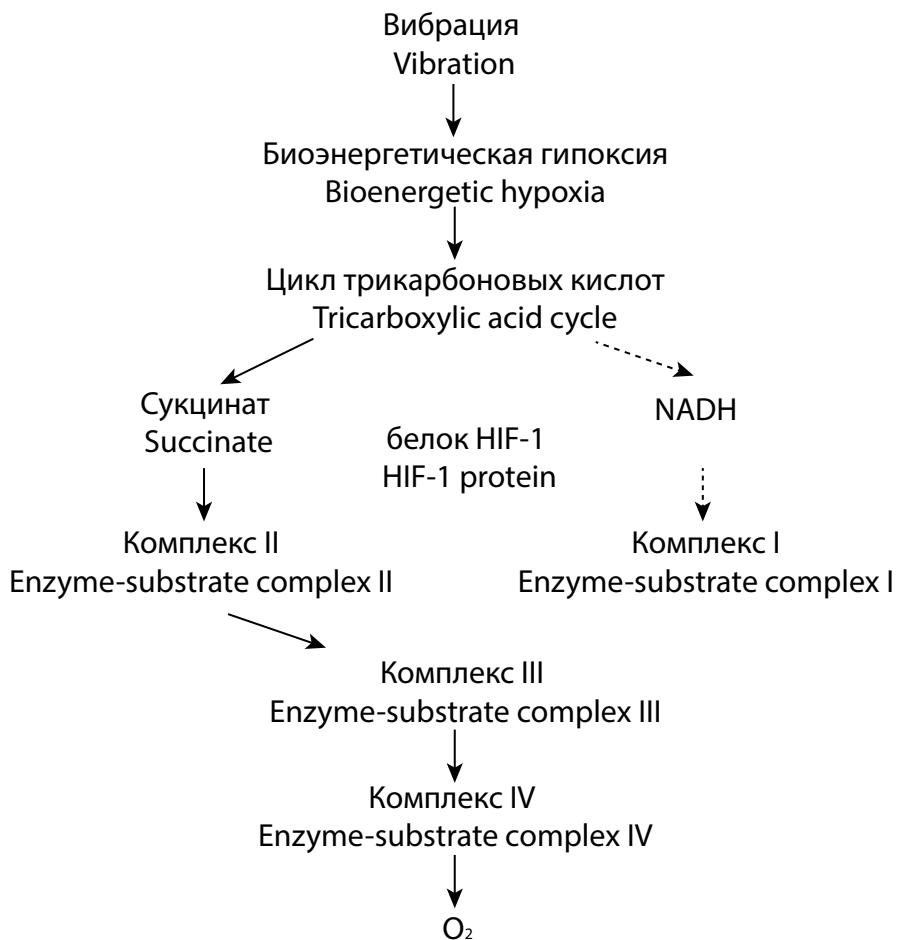


Рис. Механизм адаптации клетки к гипоксии на уровне электрон-транспортной цепи.

Гипоксическое снижение парциального давления кислорода сопровождается полным восстановлением пиридиннуклеотидов (НАДН и НАДФ) и подавлением переноса электронов на участке НАДН – СоQ. В условиях гипоксии флавопротеиды (ФАДН) и цитохромный участок сохраняют окисленность и способны работать при потенциале полу восстановления субстратных пар близком к 0В (Вольт), что обеспечивает преимущественный метаболизм эндогенной янтарной кислоты на уровне II фермент-субстратного (сукцинатзависимого) комплекса.

Fig. Mechanism of cell adaptation under hypoxia at the level of electron-transport chain.

Hypoxic reduction of oxygen partial pressure is accompanied by complete reduction of pyridine nucleotides (NADH and NADPH) and suppression of electron transport at the NADH - CoQ site. Under hypoxia conditions, flavoproteins (FADH) and the cytochrome site retain oxidation and are able to operate at the half-reduction potential of substrate pairs close to 0 Volt, which ensures preferential metabolism of endogenous succinic acid at level II of the enzyme-substrate (succinate-dependent) complex.

не митохондрий сердца некоторые процессы энергетической регуляции дыхания, моделируемые *in vitro* в неполном цикле метаболических градаций «покой-разобщение», по мере пролонгации вибрации перестраиваются для обеспечения гомеостатических функций, что находит выражение в формировании биоэнергетической гипоксии [19]. По мере снижения активности NADH-зависимого звена ЭТЦ митохондрий сердца постепенно включались амиталрезистентные (сукцинатзависимые) метаболические потоки, выполняющие компенсаторную роль в условиях

гипоксии и способствующие сохранению синтеза АТФ на цитохромном участке ЭТЦ [21]. Снижение чувствительности к амиталу и преобладание малонатчувствительного дыхания при суммировании вибрационных воздействий поддавалось адекватной количественной оценке и проявлялось как при множественном сравнении средних значений показателей, так и при дисперсионном анализе влияния градаций факторов вибрации на параметры тканевой биоэнергетики миокарда. Углубленный статистический анализ биоэнергетических показателей создает предпо-

сылки к использованию математического аппарата с целью моделирования некоторых элементов патофизиологических процессов.

В рамках некоторых кинетических математических моделей [22] активно используются традиционные биоэнергетические показатели. В частности, с целью построения математической модели работы митохондриально-ретикулярной сети каждой ЭТЦ приписывается своя система управления, снабжаемая аналитической информацией и имеющая свою доминанту (целевую функцию) для выбора оптимальной стратегии управления. Система принятия решения в каждой ЭТЦ представляет собой функции фермент-субстратных комплексов (NADH-, FADH- зависимых), активность которых обеспечивает скорость эндогенного дыхания, объем макроэргических фосфатов, доступность энергетических метаболитов к тому или иному фермент-субстратному комплексу дыхательной цепи митохондрий. Главные и наиболее уязвимые звенья электрон-транспортной цепи (NADH-дегидрогеназы и протоноформное разобщение дыхания с окислительным фосфорилированием) обмениваются полной информацией посредством митохондриально-ретикулярной системы и оптимизируют ее энергозатраты.

Таким образом, представленные в исследовании *in vitro* биоэнергетические показатели ($V_{\text{энд}}$, чувствительность эндогенного дыхания к ингибиторам, соотношение малонат- и амиталчувствительности, показатели субстратного дыхания), отражающие объем макроэргических фосфатов, доступность энергетических метаболитов, количественное соотношение дыхательных ферментов, осуществляющих фосфорилирование АДФ [23], возможно использовать в качестве переменных величин в адекватных математических моделях.

Литература (п.п. 4; 10; 12; 20; 21; 23 см. References)

- Коротенко О.Ю., Филимонов Е.С. Деформация миокарда и параметры диастолической функции левого желудочка у работников с артериальной гипертензией угледобывающих предприятий Кузбасса. *Медицина труда и промышленная экология*. 2020; 60(3): 151–6. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-3-151-156>
- Ямщикова А.В., Флейшман А.Н., Гидаятова М.О., Неретин А.А., Кунгurova A.A. Особенности вегетативной регуляции у больных вибрационной болезнью на основе активной ортостатической пробы. *Медицина труда и промышленная экология*. 2018; 6: 11–5. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2018-6-11-15>
- Рощупкин Д.И., Фесенко Е.Е., Новоселов В.И. *Биофизика органов*. М.: Наука; 2000.
- Тихонова И.В., Танканаг А.В., Гусева И.Е., Гриневич А.А. Анализ колебательных процессов в сердечно-сосудистой системе в ответ на локальный нагрев у больных сахарным диабетом 2-го типа. *Биофизика*. 2023; 68(6): 1292–302. <https://doi.org/10.31857/S0006302923060200>

- Тхагапсова М.М., Талыгин Е.А., Жоржолиани Ш.Т., Агафонов А.В., Дорофеев А.В., Городков А.Ю. и др. Сравнительное анатомическое исследование параметров закрученного потока в полости левого желудочка у животных различного размера на основании концепции смерчеобразных течений вязкой жидкости. *Биофизика*. 2020; 65(1): 165–74. <https://doi.org/10.31857/S0006302920010184>
- Воробьева В.В., Левченкова О.С., Ленская К.В., Шабанов П.Д. Механизмы структурного ремоделирования миокарда на фоне воздействия вибрации. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2024; 22(1): 17–32. <https://doi.org/10.17816/RCF624185>
- Воробьева В.В., Левченкова О.С., Шабанов П.Д. Биохимические механизмы энергопротективного действия блокаторов медленных высокопороговых кальциевых каналов L-типа. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2022; 20(4): 395–405. <https://doi.org/10.17816/RCF204395-405>
- Семин Ф.А., Хабибулина А.Р., Цатуриян А.К. Численное моделирование работы левого желудочка сердца в системе кровообращения: эффекты изменения частоты сокращений и апикального инфаркта миокарда. *Биофизика*. 2022; 67(4): 763–75. <https://doi.org/10.31857/S0006302922040159>
- Танканаг А.В., Гриневич А.А., Тихонова И.В., Чемерис Н.К. Анализ фазовых взаимосвязей между колебательными процессами в сердечно-сосудистой системе человека. *Биофизика*. 2020; 65(1): 184–9. <https://doi.org/10.31857/S0006302920010202>
- Захарченко М.В., Хундерякова Н.В. Кондрашова М.Н. Важность сохранения биофизической организации выделенных митохондрий для выявления физиологической регуляции их функций. *Биофизика*. 2011; 56(5): 840–7.
- Кондрашова М.Н., Ананенко А.А. *Аппаратура и порядок работы при полярографическом измерении дыхания митохондрий. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом*. М.: Наука, 1973.
- Гланц С. *Медико-биологическая статистика*. М.: Практика, 1999.
- Григорьев С.Г., Кувакин В.И., Николаевич М.С., Юнкеров В.И. *Применение математической теории планирования эксперимента в медицинских исследованиях*. СПб.: ВМедА, 2003.
- Дубров А.М., Мхитарян В.С., Трошин Л.И. *Многомерные статистические методы*. Финансы и статистика. 2003.
- Никольс Д. *Биоэнергетика. Введение в хемиосмотическую теорию*. М.: Мир, 1985.
- Лукьянкова Л.Д. *Сигнальные механизмы гипоксии*. М.: РАН: 2019.
- Кудрявцева Г.В., Маленков Ю.А., Шишкун В.В., Шишкун В.И., Картушен А.А. Кинетическое моделирование работы митохондриально-ретикулярной сети. *Биофизика*. 2021; 66(2): 285–93. <https://doi.org/10.31857/S0006302921020095>

References

- Korotenko O.Yu., Filimonov E.S. Myocardial deformation and parameters of diastolic function of the left ventricle in workers of coal mining enterprises in the South of Kuzbass with arterial hypertension. *Meditina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2020; 60(3): 151–6. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-3-151-156> (in Russian)
- Yamshchikova A.V., Fleishman A.N., Gidayatova M.O., Neretin A.A., Kungurova A.A. Features of vegetative regulation in vibration disease patients, studied on basis of active orthostatic test. *Meditina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2018; (6): 11–4. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2018-6-11-15> (in Russian)

3. Roschupkin D.I., Fesenko E.E., Novoselov V.I. *Biophysics of organs. [Biofizika organov]*. Moscow: Nauka, 2000. (in Russian)
4. Zambrano M.A., Alcaide P. Immune cells in cardiac injury repair and remodeling. *Current Cardiology Reports*. 2023; 25(5): 315–23. <https://doi.org/10.1007/s11886-023-01854-1>
5. Tikhonova I.V., Tankanag A.V., Guseva I.E., Grinevich A.A. Analysis of oscillatory processes in the cardiovascular system in response to local heating in patients with type 2 diabetes mellitus. *Biofizika*. 2023; 68(6): 12921302. <https://doi.org/10.31857/S0006302923060200> (in Russian)
6. Tkhangapsova M.M., Talygin E.A., Georzholian Sh.T., Agafonov A.V., Dorofeev A.V., Gorodkov A.Y., et al. A comparative anatomical study of the swirling flow parameters in the left ventricular cavity in animals of different sizes based on the concept of tornado-like flows of viscous fluids. *Biofizika*. 2020; 65(1): 165–74. <https://doi.org/10.31857/S0006302920010184> (in Russian)
7. Vorobieva V.V., Levchenkova O.S., Lenskaya K.V., Shabanov P.D. Mechanisms of myocardial structural remodeling against the background of vibration exposure. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*. 2024; 22(1): 17–32. <https://doi.org/10.17816/RCF624185> (in Russian)
8. Vorobieva V.V., Levchenkova O.S., Shabanov P.D. Biochemical mechanisms of the energy-protective action of blockers of slow high-threshold L-type calcium channels. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*. 2022; 20(4): 395–405. <https://doi.org/10.17816/RCF204395-405> (in Russian)
9. Syomin FA, Khabibullina AR, Tsaturyan AK. Numerical Modeling of Heart Left Ventricle Work in the Circulatory System: the Effects of Changes in the Frequency of Contractions and Apical Myocardial Infarction. *Biofizika*. 2022; 67(4): 763–75. <https://doi.org/10.31857/S0006302922040159> (in Russian)
10. Griffin M.J., Bovenzi M., Nelson C.M. Dose-response patterns for vibration-induced white finger. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 2003; 60(1): 16–26. <https://doi.org/10.1136/oem.60.1.16>
11. Tankanag A.V., Grinevich A.A., Tikhonova I.V., Chemeris N.K. Analysis of phase relationships between oscillatory processes in the human cardiovascular system. *Biofizika* 2020; 65(1): 184–9. <https://doi.org/10.31857/S0006302920010202> (in Russian)
12. Vorobieva V.V., Shabanov P.D. Exposure to whole body vibration impairs the functional activity of the energy producing system in rabbit myocardium. *Biophysics*. 2019. 64 (2): 251–5. <https://doi.org/10.1134/S0006350919020210>
13. Zakharchenko M.V., Khunderyakova N.V., Kondrashova M.N. Importance of preserving the biophysical organization of isolated mitochondria for revealing their physiological regulation. *Biofizika*. 2011; 56(5): 810–5. (in Russian)
14. Kondrashova M.N., Ananenko A.A. *Apparatus and order of work at polarographic measurement of mitochondrial respiration. Guide to the study of biological oxidation by polarographic method. [Apparatura i poryadok raboty pri polyarograficheskem izmerenii dykhaniya mitoondrii. Rukovodstvo po izucheniu biologicheskogo okisleniya polyarograficheskim metodom]*. Moscow: Nauka, 1973. (in Russian)
15. Glantz S. *Medico-biological statistics [Mediko-biologicheskaya statistika]*. Moscow: Praktika. 1999. (in Russian)
16. Grigoriev S.G., Kuvakin V.I., Nikolaevich M.S., Yunkerov V.I. *Application of mathematical theory of experiment planning in medical research. [Primenenie matematicheskoy teorii planirovaniya eksperimenta v meditsinskikh issledovaniyakh]*. Sankt-Peterburg: V MedA, 2003. (in Russian)
17. Dubrov A.M., Mkhitarian B.C., Troshin L.I. *Multivariate statistical methods. [Mnogomernye statisticheskie metody]* Finance and Statistics 2003. (in Russian)
18. Nikols D. *Bioenergy. Introduction to Chemiosmotic Theory. [Vvedenie v hemiosmoticheskuyu teoriyu]*. Moscow: Mir 1985 (in Russian)
19. Lukyanova L.D. *Signaling mechanisms of hypoxia. [Signalnye mehanizmy gipoksii]* Moscow: RAN; 2019. (in Russian)
20. Vorobieva V.V., Levchenkova O.S., Shabanov P.D. Pharmacological blockade of high threshold L-type calcium channels in cardiomyocytes restores respiratory chain activity impaired by vibration. *Biophysics*. 2024; 69(2): 261–6. <https://doi.org/10.1134/S0006350924700301>
21. Vorobieva V.V., Shabanov P.D. A Change in the Content of Endogenous Energy Substrates in Rabbit Myocardium Mitochondria Depending upon Frequency and Duration of Vibration. *Biophysics*. 2021; 66(4): 610–3. <https://doi.org/10.1134/S0006350921040229>
22. Kudryavtseva G.V., Malenkov Y.A., Shishkin V.V., Shishkin V.I., Kartunen A.A. Kinetic modeling of mitochondrial-reticular network dynamics. *Biofizika* 2021; 66(2): 285–93. <https://doi.org/10.31857/S0006302921020095> (in Russian)
23. Vorobieva V.V., Levchenkova O.S., Shabanov P.D. Activity of succinate dehydrogenase in rabbit blood lymphocytes depends on the characteristics of the vibration-based impact. *Biophysics*. 2022; 67(2): 203–8. <https://doi.org/10.1134/S0006350922020233>

Сведения об авторах:

Воробьева Виктория Владимировна, доктор мед. наук, проф. каф. фармации Санкт-Петербургского университета;
Левченкова Ольга Сергеевна, доктор мед. наук, доцент каф. фармакологии Смоленского государственного медицинского университета;
Ленская Карина Владимировна, доктор биол. наук, проф., зав. каф. фармации Санкт-Петербургского университета;
Шабанов Петр Дмитриевич, доктор мед. наук, проф., зав. отд. нейрофармакологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург.

Иванов К.П.^{1,2}, Долгих В.Т.¹

Индексная оценка параметров функционирования сердечно-сосудистой системы у постинсультных больных

¹Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии, 107031, Москва, Россия, ул. Петровка, д. 25, стр. 2;
²ГНЦ РФ «Институт медико-биологических проблем» РАН, 123007, Москва, Россия, Хорошевское шоссе, д. 76А

Введение. Объективные характеристики функционирования сердечно-сосудистой системы (ССС) являются важными индикаторами физиологического состояния и адаптационных резервов организма человека. Цель исследования – индексная оценка состояния периферического кровообращения и показателей уравновешенности сердечного и сосудистого компонентов ССС при проведении 2-го этапа реабилитационных мероприятий у больных, перенесших ишемический инсульт, в зависимости от пола и возраста.

Методика. Исследовали функциональное состояние ССС у 66 пациентов в возрасте от 41 до 83 лет на 2-ом этапе реабилитации после перенесенного ишемического инсульта. Пациентами ежедневно, в течение 2-х недель, выполнялась программа реабилитации, включающая занятия лечебной физкультурой, с дополнительным использованием механотерапевтического оборудования, лечебный массаж, аппаратную физиотерапию и медикаментозную терапию. На 1-е и 10-е сутки реабилитационного лечения проводилось суточное холтеровское мониторирование электрокардиограммы и артериального давления. Регистрировали параметры ЧСС и АД. Для оценки динамики показателей функционального состояния и адаптационного потенциала ССС рассчитывали индексы функционирования ССС.

Результаты. Интегральная оценка функционального состояния ССС пациентов позволяет проанализировать мобилизацию адаптационных возможностей организма при проведении реабилитационного лечения. Рассчитаны значения диапазона физиологической нормы индексов гемодинамики: должного общего и удельного периферического сосудистого сопротивления (ДОПСС и ДУПСС), должного минутного объема крови и сердечного индекса (ДМОК и ДСИ), индексов работы сердца и тонуса сосудов (ИРС и ИТС), а также интегральный показатель уравновешенности сердечного и сосудистого компонентов (ИПУССК). Зарегистрировано статистически значимое ($p<0,05$) уменьшение показателей ОПСС, КОПСС и увеличение показателя ДОПСС. В целом по группе ($n=66$), положительная тенденция функционирования ССС отмечается в 83,33% наблюдений.

Заключение. Использование индексов интегральной оценки функционального состояния ССС при проведении реабилитационных мероприятий после перенесенного ишемического инсульта является актуальным и патогенетически обоснованным. В целом, отмечается тенденция положительной динамики значений функционирования и повышение адаптационного потенциала ССС, подтверждающая эффективность проводимых реабилитационных мероприятий. Использованные методы оценки могут быть предложены в качестве способа мониторинга эффективности реабилитации у постинсультных пациентов и для определения плана реабилитационных мероприятий на третьем этапе.

Ключевые слова: ишемический инсульт; сердечно-сосудистая система; индексы гемодинамики; постинсультная реабилитация

Для цитирования: Иванов К.П., Долгих В.Т. Индексная оценка параметров функционирования сердечно-сосудистой системы у постинсультных больных. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2025; 69(3): 52–62.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.52-62

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Долгих В.Т.; сбор и обработка материала – Иванов К.П.; статистическая обработка материала – Иванов К.П.; написание текста – Иванов К.П., Долгих В.Т.; редактирование текста – Долгих В.Т. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех ее частей – все соавторы.

Для корреспонденции: Иванов Кирилл Петрович, e-mail: kprivanov95@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 11.06.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Ivanov K.P.^{1,2}, Dolgikh V.T.¹**Index assessment of parameters of the cardiovascular system functioning in post-stroke patients**¹Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation, 25 Petrovka St., Moscow 107031, Russian Federation;²Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, 76A Khoroshevskoe Shosse, Moscow 123007, Russian Federation

Introduction. Objective characteristics of the cardiovascular system (CVS) functioning are important indicators of the physiological state and adaptive reserves of the human body. **Aim.** Index assessment of the state of peripheral circulation and parameters of the balance between the CVS cardiac and vascular components during the 2nd stage of rehabilitation in patients after ischemic stroke depending on their gender and age.

Methods. The CVS functional state was studied in 66 patients aged 41 to 83 years at the 2nd stage of rehabilitation after ischemic stroke. The patients underwent a rehabilitation program daily for 2 weeks, including exercise therapy using additional mechanical therapeutic devices, therapeutic massage, equipment-based physiotherapy, and drug therapy. On days 1 and 10 of the rehabilitation treatment, daily Holter monitoring of electrocardiogram and blood pressure was performed. Heart rate (HR) and blood pressure (BP) parameters were recorded. To assess the dynamics of the CVS functional state and adaptive potential, CVS function indices were calculated.

Results. An integrated assessment of the CVS functional state allows analyzing the mobilization of the body's adaptive capabilities during rehabilitation treatment. The values of the physiological normal range of hemodynamic indices were calculated as the proper total and specific peripheral vascular resistance (PTPVR and PSPVR), proper minute blood volume and cardiac index (PMBV and PCI), indices of cardiac function and vascular tone (HWI and VTI), and the integral indicator of the balance of the cardiac and vascular components (IIBCVC). Statistically significant ($p<0.05$) decreases in TPVR and KTPVR and an increase in PTPVR were observed. In the total group ($n=66$), a positive trend in the CVS functioning was noted in 83.33% of cases.

Conclusion. The use of indices for integrated assessment of the CVS functional state during post-ischemic stroke rehabilitation is relevant and pathogenetically justified. In general, there was a tendency for positive dynamics of CVS functioning and its adaptive potential that confirmed the effectiveness of the rehabilitation activities. The above assessment methods can be proposed for monitoring the effectiveness of rehabilitation in post-stroke patients and for scheduling rehabilitation measured at stage 3.

Keywords: ischemic stroke; cardiovascular system; hemodynamic indices; post-stroke rehabilitation

For citation: Ivanov K.P., Dolgikh V.T. Index assessment of cardiovascular system functioning parameters in post-stroke patients. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(3): 52–62. (in Russian)

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.52-62

Author's contribution: concept and design of the study – Dolgikh V.T.; collection and processing of material, statistical processing – Ivanov K.P.; writing the text – Ivanov K.P., Dolgikh V.T.; editing the text – Dolgikh V.T. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: Kirill P. Ivanov, postgraduate student, Federal Scientific and Clinical Center for Intensive Care and Rehabilitation; researcher, Institute of Biomedical Problems Russian Academy of Sciences, e-mail: kpivanov95@gmail.com

Information about the authors:

Ivanov K.P., <https://orcid.org/0009-0000-9569-2246>
Dolgikh V.T., <https://orcid.org/0000-0001-9034-4912>

Financing. The study had no sponsorship.

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

Received 11.06.2025

Accepted 25.08.2025

Published 30.09.2025

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) представляют собой важнейшую медико-социальную проблему. В настоящее время они занимают первое место (57%) по причине летальности во всем мире. В России ежегод-

но на 100 тысяч населения от инфаркта миокарда погибают 154 женщины и вдвое больше мужчин [1]. По данным Росстата в 2022 г. от заболеваний сердечно-сосудистой системы (ССС) умерли 831 557 человек (43,8% от общей доли смертности). Категория ССЗ включает ишемическую болезнь сердца, цереброваскулярные за-

болевания и острые нарушения мозгового кровообращения [2]. По данным мировой статистики продолжается рост числа ССЗ, отмечается снижение возраста развития заболевания, прослеживается высокая частота инвалидизации [3].

Инсульт – часто встречающееся заболевание ССС, которое может привести к длительной нетрудоспособности, а в ряде случаев является причиной инвалидизации пациента. Проводимые реабилитационные мероприятия после перенесенного инсульта, сопровождающиеся нагрузкой на все функциональные системы, в том числе и на ССС, оказывают влияние на адаптационные возможности организма пациента.

Объективные характеристики функционального состояния ССС являются важными индикаторами физиологического состояния организма и адаптационных резервов, которые в совокупности отражают адаптационные механизмы организма человека [4]. Снижение адаптационных возможностей организма ведет к снижению функциональных резервов, в первую очередь ССС, и росту напряжения регуляторных систем для поддержания гомеостаза основных систем организма [5, 6].

Данные индексной оценки функционирования ССС играют важную роль при выявлении индивидуальных морфофункциональных особенностей пациента, находящегося во 2-ом восстановительном периоде после перенесенного инсульта. Полученная в результате их вычисления информация о пациенте позволяет индивидуально обосновать медикаментозные, физиотерапевтические и физические мероприятия при проведении следующего, 3-го этапа реабилитационного лечения.

В доступных литературных источниках (базы данных РИНЦ и PubMed) не обнаружено информации об индексной оценке состояния периферического отдела кровообращения по показателям общего (ОПСС) и удельного (УПСС) периферического сопротивления сосудов и показателям уравновешенности (ИПУССК) сердечного и сосудистого компонентов ССС (индексов работы сердца и тонуса сосудов – ИРС и ИТС), у пациентов, находящихся в восстановительном периоде после перенесенного инсульта, в том числе в ходе выполнения 2-го этапа реабилитационных мероприятий.

Таким образом, актуальность изучения в динамике значений индексной оценки 2-го этапа реабилитационных мероприятий у больных, находящихся в восстановительном периоде после перенесенного инсульта, не подлежит сомнению.

Цель работы: индексная оценка состояния периферического отдела кровообращения и показателей уравновешенности сердечного и сосудистого компонентов ССС при проведении 2-го этапа реабилитационных меропри-

ятий у больных, перенесших ишемический инсульт, в зависимости пола и возраста.

Методика

Обследованы 66 пациентов отделения медицинской реабилитации для пациентов с нарушением функции ЦНС «НИИ Реабилитологии им. проф. Пряникова И.В.» ФНКЦ РР, проходивших 2-й этап реабилитации после перенесенного ишемического инсульта. В исследовании включено 34 женщины и 32 мужчины, распределенные на 3 возрастные группы (41–59 лет, 60–68 лет и 69–83 лет).

Количество пациентов (женщин/мужчин) внутри групп соответственно составляет: (Ж/М, чел.): 7Ж/13М, 15Ж/10М, 12Ж/9М. Антропометрические показатели: средний возраст: 64,88(7,43) Ж/62,34(10,65)М; рост: 163,09(7,30)Ж/176,66(7,43)М; вес: 76,82(10,75)Ж /87,00(14,19)М.

Исследования проходили в два этапа. Первый этап проводился на 2-й день после поступления пациентов, до проведения реабилитационных мероприятий. В начале первого этапа у всех пациентов регистрировали возраст, рост и вес. Второй этап исследования проходил на 12-е сутки лечения. Программа реабилитации включала 10 ежедневных физиотерапевтических процедур: сухие углекислые ванны; низкоинтенсивную магнитотерапию на шейно-воротниковую область с частотой 50 Гц; занятия лечебной физкультурой в индивидуальном режиме, с дополнительным использованием механотерапевтического оборудования, лечебный массаж шейно-воротниковой области. Ежедневно пациентам проводили внутривенное капельное введение мексидола 50 мг/1000 мл/сутки. Суточное мониторирование ЧСС и АД на 1-м этапе (2-е сутки) и 2-м этапе (12-е сутки) проводилось с использованием оборудования Astrocard® Holter System («Медитек», РФ). Проводился расчет и оценка следующих показателей:

1. Общее периферическое сопротивление сосудов (ОПСС) (дин \times см $^{-1}$ \times см $^{-5}$ или у.е) рассчитывали по формуле Пуазеля: ОПСС = СрГД \times 1,333 \times 60 / МОК, где СрГД – среднее гемодинамическое артериальное давление, МОК – минутный объем крови [7].

2. Должное общее периферическое сосудистое сопротивление (ДОПСС) (дин \times см $^{-1}$ \times см $^{-5}$ или у.е) определяется по формуле: ДОПСС = 80 \times СрГД / ДМОК, где СрГД – среднее гемодинамическое артериальное давление, ДМОК – должный минутный объем крови [7].

3. Коэффициент уравновешенности фактического к должностному показателю индекса общего периферического сопротивления сосудов (КОПСС = ОПСС / ДОПСС) здорового человека должен стремиться к единице, имея границы референсных значений (РЗ): 0,9–1,1 у.е.

4. Величину удельного периферического сосудистого сопротивления рассчитывали по формуле: УПСС = СрГД/СИ (дин × см⁻¹ × см⁻⁵ или у.е). Считается, что УПСС более точно отражает резистентность сосудистого русла по отношению к антропометрическим параметрам организма [8].

5. Должное удельное периферическое сосудистое сопротивление (ДУПСС) (дин × см⁻¹ × см⁻⁵ или у.е) рассчитано по формуле: ДУПСС = СрГД/ДСИ, где СрГД – среднее гемодинамическое артериальное давление, ДСИ – должный сердечный индекс [7].

6. Коэффициент уравновешенности фактического к должностному показателю индекса удельного периферического сопротивления сосудов (КУПСС = УПСС/ДУПСС) здорового человека должен стремиться к единице, имея границы Р3: 0,9–1,1 у.е.

7. Индекс работы сердца (ИРС у.е) определяли по формуле: ИРС = УОС/ЧСС; где ЧСС – частота сердечных сокращений, УОС – ударный объём сердца [9]. Р3 ИРС больше 1,0 у.е. [10].

8. Индекс тонуса сосудов (ИТС у.е) определяли по формуле: ИТС = ПД/ДАД; где ПД – пульсовое давление, ДАД – диастолическое АД [9].

9. Интегральный показатель уравновешенности сердечного и сосудистого компонентов (ИПУССК у.е) вычисляли по формуле: ИПУССК = ИРС×ИТС, где ИРС – индекс работы сердца; ИТС – индекс тонуса сосудов [9]. Р3 ИПУССК больше 0,5 у.е. [10].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета статистических программ Statistica, версия 10.0. Для оценки характера нормальности распределения данных использовали визуально-графический метод и критерии согласия Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Распределение в выборках отличалось от нормального, в связи с чем данные представляли в виде медианы (Ме), нижнего (Q1) и верхнего (Q3) квартилей. Для сравнения двух связанных признаков использовали непараметрический критерий Уилкоксона. При проверке гипотез статистически значимыми считали результаты при уровне вероятности более 95% ($p<0,05$) [11].

Результаты

1. Как следует из **табл. 1**, для 7-й группы уменьшение ОПСС составляет 0,22% ($p=0,666$). Во всех группах женщин ОПСС уменьшается с 3,10% ($p=0,255$) до 6,17% ($p=0,713$). Во всех группах мужчин ОПСС увеличивается с 8,31% ($p=0,649$) до 15,02% ($p=0,212$). Статистически значимое значение ($p=0,045$) зафиксировано в 5-й группе. ОПСС во всех группах находится в диапазоне от 1705,99 (1590,82–1906,89) до 2089,9 (1635,5–2359,76).

2. Для 7-й группы уменьшение ДОПСС составляет 1,48% ($p=0,284$). ДОПСС уменьшается в 1-й группе

на 8,36% ($p=0,116$), 3 группе на 1,54% ($p=0,213$), а также в 6 группе на 1,53% ($p=0,612$). ДОПСС увеличивается во 2-й и 4-й группах на 2,89% ($p=0,047$ – статистически значимое значение) и 2,87% ($p=0,515$) и в 5-й группе на 1,13% ($p=0,814$). ДОПСС во всех группах находится в диапазоне от 1125,11 (1045,96–1174,17) до 1613,86 (1322,19–1702,79).

3. Как следует из **табл. 1**, для 7-й группы уменьшение ОПСС составляет 0,22% ($p=0,666$). Во всех группах женщин ОПСС уменьшается с 3,10% ($p=0,255$) до 6,17% ($p=0,713$). Во всех группах мужчин ОПСС увеличивается с 8,31% ($p=0,649$) до 15,02% ($p=0,212$). Статистически значимое значение ($p=0,045$) зафиксировано в 5-й группе. ОПСС во всех группах находится в диапазоне от 1705,99 (1590,82–1906,89) до 2089,9 (1635,5–2359,76).

4. Для 7-й группы уменьшение ДОПСС составляет 1,48% ($p=0,284$). ДОПСС уменьшается в 1-й группе на 8,36% ($p=0,116$), 3-й группе на 1,54% ($p=0,213$), а также в 6-й группе на 1,53% ($p=0,612$). ДОПСС увеличивается во 2-й и 4-й группах на 2,89% ($p=0,047$ – статистически значимое значение) и 2,87% ($p=0,515$) и в 5-й группе на 1,13% ($p=0,814$). ДОПСС во всех группах находится в диапазоне от 1125,11 (1045,96–1174,17) до 1613,86 (1322,19–1702,79).

5. Для 7-й группы увеличение КОПСС составляет 3,85% ($p=0,598$). КОПСС увеличивается в 4-й группе на 8,90% ($p=0,417$), 6-й группе на 16,92% ($p=0,361$) и в 3-й группе на 0,85% ($p=0,644$). КОПСС уменьшается во 2-й и 5-й группах на 2,98% ($p=0,556$) и 2,86% ($p=0,017$ – статистически значимое значение) соответственно. В 1-й группе КОПСС без изменений. КОПСС во всех группах находится в диапазоне от 1,02 (0,86–1,18) до 1,68 (1,48–1,79).

6. Для 7-й группы уменьшение УПСС составляет 0,34% ($p=0,487$). УПСС уменьшается в 1-й и 2-й группах на 18,05% ($p=0,091$) и 3,06% ($p=0,650$) соответственно и в 3-й и 5-й группах на 7,16% ($p=0,182$) и 6,81% ($p=0,695$). В 4-й и 6-й группах, УПСС увеличивается на 17,44% ($p=0,441$) и 6,02% ($p=0,398$). УПСС во всех группах находится в диапазоне от 37,37 (31,98–45,46) до 56,69 (47,05–62,61). Для 7-й группы увеличение КОПСС составляет 3,85% ($p=0,598$). КОПСС увеличивается в 4-й группе на 8,90% ($p=0,417$), 6-й группе на 16,92% ($p=0,361$) и в 3-й группе на 0,85% ($p=0,644$). КОПСС уменьшается во 2-й и 5-й группах на 2,98% ($p=0,556$) и 2,86% ($p=0,017$ – статистически значимое значение) соответственно. В 1-й группе КОПСС без изменений. КОПСС во всех группах находится в диапазоне от 1,02 (0,86–1,18) до 1,68 (1,48–1,79).

7. Для 7-й группы уменьшение УПСС составляет 0,34% ($p=0,487$). УПСС уменьшается в 1-й и 2-й группах на 18,05%

Таблица 1/Table 1

Изменение по группам показателей сердечно-сосудистой системы в ходе проведения реабилитационных мероприятий Me (Q1 – Q3)
Changes in groups of cardiovascular system indicators during rehabilitation activities Me (Q1 – Q3)

Параметры Parameters	41–59 лет/years (n=20)						60–67 лет/years (n=25)		
	1 группа женщины group women (n=7)			2 группа мужчины group men (n=13)			3 группа женщины group women (n=15)		
	1 сутки day	10 сутки day	P	1 сутки day	12 сутки day	P	1 сутки day	12 сутки day	P
ОПСС TPVR (1779,90–2270,14)	1947,78 (1788,37–2091,08)	1887,41 (1788,37–2091,08)	0,255	1721,34 (1665,99–2034,06)	1868,77 (1702,94–2227,91)	0,561	1920,90 (1729,58–1979,42)	1802,33 (1723,79–2138,44)	0,713
ДОПСС PTPVR (1322,19–1702,79)	1613,86 (1322,19–1702,79)	1478,87 (1316,72–1623,38)	0,116	1125,11 (1045,96–1174,17)	1157,67 (1050,10–1190,14)	0,047*	1560,10 (1459,91–1807,49)	1536,01 (1403,34–1648,34)	0,213
КОПСС KTPVR (1,14–1,50)	1,35 (1,14–1,50)	1,35 (1,20–1,46)	0,801	1,68 (1,48–1,79)	1,63 (1,56–1,80)	0,556	1,18 (1,02–1,28)	1,19 (0,98–1,35)	0,644
УПСС SPVR (34,35–68,10)	46,25 (34,35–68,10)	37,90 (35,64–62,37)	0,091	45,44 (38,58–53,89)	44,05 (37,52–55,49)	0,650	40,25 (32,13–46,01)	37,37 (31,98–45,46)	0,182
ДУПСС PSPVR (32,52–40,39)	35,09 (32,52–40,39)	35,08 (31,72–38,86)	0,116	27,90 (27,23–31,52)	29,50 (27,02–31,07)	0,650	35,33 (33,55–36,63)	34,63 (32,27–36,17)	0,182
КУПСС KSPVR (1,05–1,72)	1,16 (1,05–1,72)	1,16 (1,08–1,58)	0,176	1,55 (1,40–1,75)	1,52 (1,32–1,68)	0,650	1,25 (0,93–1,42)	1,24 (0,91–1,41)	0,477
ИРС HWI (0,90–1,00)	0,94 (0,90–1,00)	0,89 (0,83–1,16)	0,535	1,11 (0,88–1,31)	0,99 (0,78–1,15)	0,183	0,99 (0,69–1,16)	0,99 (0,71–1,09)	0,854
ИТС VTI (0,55–0,64)	0,59 (0,55–0,64)	0,579 (0,54–0,60)	0,116	0,62 (0,50–0,72)	0,53 (0,52–0,72)	0,814	0,73 (0,54–0,92)	0,66 (0,60–0,92)	0,069
ИПУССК IIBCVC	0,56 (0,44–0,69)	0,50 (0,48–0,64)	0,310	0,71 (0,43–0,95)	0,52 (0,48–0,86)	0,249	0,81 (0,27–0,94)	0,61 (0,39–1,02)	0,594
ДМОК PMBV	4,88 (4,64–5,17)			6,39 (6,29–6,73)			4,61 (4,25–4,98)		
ДОО BMR	1371,50 (1305,25–1454,00)			1783,75 (1770,00–1876,25)			1282,75 (1186,50–1362,75)		
ИМТ BMI	28,12 (24,91–31,60)			28,63 (28,39–34,60)			27,23 (25,71–31,95)		
ППТ BSA	1,81 (1,73–1,94)			2,08 (1,98–2,17)			1,77 (1,69–1,88)		
ДСИ PCI	2,69 (2,66–2,70)			3,08 (3,02–3,10)			2,54 (2,49–2,59)		

Примечание. ОПСС – общее периферическое сопротивление сосудов; ДОПСС – должное общее периферическое сосудистое сопротивление; коэффициент КОПСС=ОПСС/ДОПСС; УПСС – удельное периферическое сосудистое сопротивление; ДУПСС – должное удельное периферическое сосудистое сопротивление; коэффициент КУПСС=УПСС/ДУПСС; ИРС – индекс работы сердца; ИТС – индекс тонуса сосудов; ИПУССК – интегральный показатель уравновешенности сердечного и сосудистого компонентов. * Wilcoxon (p≤0,05) при сравнении 1 и 10 дня реабилитации.

Note. TPVR – Total peripheral vascular resistance; PTPVR – Proper total peripheral vascular resistance; The coefficient KTPVR=TPVR/PTPVR; SPVR – Specific peripheral vascular resistance; PSPVR – Proper specific peripheral vascular resistance; The coefficient KSPVR=SPVR/PSPVR; HWI – Heart work index; VTI – Vascular tone index; IIBCVC – Integral indicator of balance of cardiac and vascular components. * Wilcoxon (p≤0,05).

(p=0,091) и 3,06% (p=0,650) соответственно и в 3-й и 5-й группах на 7,16% (p=0,182) и 6,81% (p=0,695). В 4-й и 6-й группах, УПСС увеличивается на 17,44% (p=0,441) и 6,02% (p=0,398). УПСС во всех группах находится в диапазоне от 37,37 (31,98–45,46) до 56,69 (47,05–62,61). Для 7-й группы уменьшение ИРС составляет 5,26% (p=0,053). ИРС уменьшается во всех возрастных группах с 0,00% (p=0,854) до 18,89% (p=0,107), кроме увеличения в 5-й группе на 4,12% (p=0,806). ИРС во всех группах находится в диапазоне от 0,73 (0,56–0,9) до 1,11 (0,88–1,31).

Для 7-й группы уменьшение ИТС составляет 6,67% (p=0,162). ИТС уменьшается во всех возрастных группах с 3,39% (p=0,116) до 19,40% (p=0,086), кроме увеличения в 5-й группе на 1,37% (p=0,086). ИТС во всех группах находится в диапазоне от 0,53 (0,52–0,72) до 0,73 (0,56–0,89).

Для 7-й группы уменьшение ИПУССК составляет 18,75% (p=0,167). ИПУССК уменьшается во всех возрастных группах с 0,44% (p=0,594) до 22,39% (p=0,110), кроме 4-й группы на 33,87% (p=0,110).

60–67 лет/years (n=25)			68–83 лет/years (n=21)					41–83 лет/years (n=66)			
4 группа мужчины group men (n=10)			5 группа женщины group women (n=12)			6 группа мужчины (n=9) group men (n=9)			7 группа женщины (n=34) + мужчины (n=32) group women (n=34) + men (n=32)		
1 сутки day	12 сутки day	P	1 сутки day	12 сутки day	P	1 сутки day	12 сутки day	P	1 сутки day	12 сутки day	P
1817,02 (1585,09–2169,83)	2089,90 (1635,50–2359,76)	0,212	1796,10 (1315,10–2104,01)	1715,99 (1487,59–2020,01)	0,045*	1705,99 (1590,82–1906,89)	1847,73 (1705,18–2067,42)	0,649	1968,35 (1779,90–2270,14)	1964,04 (1788,37–2091,08)	0,666
1238,97 (1185,99–1353,15)	1274,48 (1185,28–1434,49)	0,515	1495,72 (1320,79–1707,99)	1512,55 (1263,54–1786,12)	0,814	1353,44 (1191,65–1392,00)	1332,70 (1250,78–1402,66)	0,612	1378,90 (1191,65–1570,39)	1358,55 (1198,93–1536,01)	0,284
1,46 (1,24–1,67)	1,59 (1,35–1,70)	0,417	1,05 (0,92–1,30)	1,02 (0,86–1,18)	0,017*	1,30 (1,24–1,46)	1,52 (1,20–1,67)	0,361	1,30 (1,14–1,57)	1,35 (1,16–1,61)	0,598
48,27 (37,47–74,91)	56,69 (47,05–62,61)	0,441	44,81 (40,04–59,21)	41,76 (38,83–45,40)	0,695	51,36 (50,27–58,40)	54,45 (50,72–58,40)	0,398	47,49 (40,74–53,89)	47,33 (36,89–56,43)	0,487
31,47 (29,80–34,84)	31,59 (30,94–34,84)	0,515	34,23 (30,07–37,73)	35,98 (29,78–37,92)	0,937	30,95 (30,32–31,52)	31,19 (30,32–31,55)	0,612	32,82 (30,01–36,17)	32,03 (30,22–35,85)	0,301
1,56 (1,29–1,89)	1,78 (1,52–2,12)	0,260	1,42 (1,19–1,60)	1,30 (1,16–1,49)	0,433	1,77 (1,68–1,92)	1,74 (1,61–1,92)	0,176	1,43 (1,17–1,75)	1,45 (1,18–1,69)	0,763
0,90 (0,59–1,06)	0,73 (0,56–0,90)	0,107	0,97 (0,79–1,13)	1,01 (0,63–1,16)	0,806	0,89 (0,56–1,05)	0,77 (0,56–1,05)	0,075	0,95 (0,73–1,12)	0,90 (0,68–1,10)	0,053
0,67 (0,48–0,74)	0,54 (0,45–0,67)	0,086	0,73 (0,56–0,89)	0,73 (0,63–0,87)	0,086	0,68 (0,50–0,89)	0,63 (0,44–0,81)	0,091	0,60 (0,56–0,67)	0,56 (0,52–0,60)	0,162
0,62 (0,27–0,77)	0,41 (0,24–0,60)	0,110	0,64 (0,41–0,99)	0,71 (0,39–0,96)	0,937	0,63 (0,25–0,81)	0,49 (0,25–0,71)	0,237	0,64 (0,40–0,94)	0,52 (0,37–0,84)	0,167
6,12 (5,36–6,24)			4,38 (4,23–4,52)			5,30 (5,00–5,49)			5,14 (4,67–5,99)		
1720,00 (1506,25–1755,00)			1246,50 (1207,12–1307,75)			1490,00 (1405,00–1545,00)			1446,50 (1276,50–1717,50)		
27,24 (23,54–29,35)			30,43 (28,53–32,46)			26,36 (23,66–27,77)			28,39 (26,02–31,24)		
2,09 (1,87–2,12)			1,77 (1,72–1,84)			1,89 (1,77–1,93)			1,88 (1,77–2,08)		
2,91 (2,86–2,92)			2,50 (2,47–2,51)			2,79 (2,78–2,84)			2,70 (2,53–2,92)		

ИПУССК во всех группах находится в диапазоне от 0,41 (0,24–0,6) до 0,81 (0,27–0,94).

Обсуждение

Ведущая роль в поддержании адаптационного потенциала организма человека принадлежит ССС. Оценка индексов функционирования ССС в процессе реабилитационного лечения играет важную роль для определения функциональных особенностей пациента, адаптационных резервов организма и эффективности реабилитации.

Одним из определяющих факторов, оказывающих влияние на уровень артериального давления и поддержание относительного постоянства среднего динамического давления, является периферическое сопротивление сосудистого русла. Для оценки периферического сопро-

тивления необходимо знать степень проходимости периферийного русла. Расчет периферического сопротивления позволяет изучить артериальный тонус и его изменения в различных физиологических и патологических условиях.

1. ОПСС является одним из основных факторов, определяющих колебания АД, и отражает постнагрузку. Изменение ОПСС имеет направленность, прямо противоположную значению сердечного индекса (СИ). СИ – индексированный показатель гемодинамики, характеризующий хроно- и инотропную функции сердца. СИ, как отношение минутного объема кровообращения к площади поверхности тела, является показателем насосной функции сердца [7]. ОПСС определяется степенью сужения резистивных сосудов, к которым относятся артериолы

и венулы, расположенные в пре- и посткапиллярных областях сосудистого русла [12]. По мере увеличения возраста снижается растяжимость кровеносных сосудов, и, как следствие приводит к постепенному увеличению ОПСС, что приводит к снижению выброса минутного объема крови примерно на 1 % каждый год после 30 лет [13].

После проведения реабилитационного лечения, во 2-й и 6-й группах мужчин отмечается увеличение показателя ОПСС в рамках диапазона Р3; в 4-й группе наблюдается повышение ОПСС, выходящее за границы диапазона, что свидетельствует об отрицательной динамике состояния суммарной проходимости прекапиллярного русла, повышении тонического напряжения артериальных стенок и сопротивления резистивных сосудов [14]. У женщин, во всех возрастных группах, отмечается снижение показателя ОПСС: в 1-й и 3-й группах от исходно высоких значений ОПСС в рамках границ Р3; в 5 группе – снижение ОПСС в границах Р3 [15, 16]. В целом, для 7-й группы, значения ОПСС, характеризующих суммарное гидравлическое сопротивление потоку крови общим микроциркуляторным руслом, уменьшаются в сторону границ Р3 (1100–1900 дин × см⁻¹ × см⁻⁵) [17].

2. Границы Р3 ДОПСС в доступных литературных источниках (РИНЦ, PubMed) не обнаружены. Исходя из формулы ДОПСС = 80 × СрГД/ДМОК, рассчитан диапазон Р3 индекса для здорового человека по следующим данным. Границы Р3 СрГД составляют 70–100 мм рт. ст. [15]. Большинство должных показателей гемодинамики вычисляется исходя из базовой формулы должного минутного объема крови (ДМОК, л/мин), предложенной Савицким Н.Н., с учетом интенсивности обменных процессов [18]. ДМОК = ДОО/281, где ДОО – это должный основной обмен, рассчитываемый по формулам Харриса-Бенедикта, учитывающими, что основной обмен зависит от пола, возраста и массы тела [7]. Должный основной обмен (формула Маффина-Джеора, взамен Харриса Бенедикта) рассчитан по формуле ДОО = BMR = (10 × вес в кг) + (6,25 × рост в см) – (5 × возраст в годах) ± коэффициент (–161 для женщин или + 5 для мужчин). Границы диапазона Р3 ДОО: 2100–4200 (мужчины) и 1800–3050 (женщины) [19, 20]. Рассчитанный ДМОК составляет: для мужчин (7,47–14,95 у.е), для женщин (6,41–10,85 у.е). Соответственно, значения ДОПСС составляют: для мужчин (374,6–1071,0 у.е), для женщин (516,1–1248,1 у.е). Учитывая разброс этих значений, целесообразно установить границы диапазона нормальных физиологических значений, как среднее значение ± 10%, т.е. значения ДОПСС для мужчин 650–800 у.е, для женщин 800–970 у.е. Наряду с этим, необходимо отметить и мнение других авторов о том, что формулы ОПСС и ДОПСС применимы не для расчетов, а для демонстра-

ции пропорциональности зависимостей, так как ОПСС зависит от длины сосуда, его радиуса и вязкости крови, которые нередко изменяются независимо друг от друга. Соответственно, в табл. 1, динамика изменения (снижение показателей ДОПСС в группах 1, 3, 6, 7) в сторону рассчитанных Р3 оценивается как положительная; движение в противоположную сторону (группа 2, 4, 5) – как отрицательный качественный показатель.

3. КОПСС сравнивает фактические значения параметров гемодинамики с должностными показателями здорового человека. Положительная динамика наблюдается во 2-й и 5-й группах, что указывает на улучшение состояния ССС. Отрицательная динамика КОПСС во всех остальных группах и для всей группы пациентов (*n*=66) свидетельствует о снижении адаптационных возможностей при проведении реабилитационных мероприятий и указывает на необходимость их корректировки.

4. УПСС – показатель, отражающий сопротивление току крови на данном участке сосудистой системы. В аорте сопротивление току крови минимально, в артериях сопротивление увеличивается, но незначительно, поскольку артерии – это крупные сосуды с большим радиусом. Артериолы имеют хорошо развитую мышечную оболочку и могут резко уменьшать свой просвет за счёт сокращений. Артериолы длиннее капилляров и представляют собой ветвистые и извитые сосуды с турбулентным током крови. В артериолах самое высокое сопротивление току крови, поэтому их называют резистивными сосудами. В капиллярах сопротивление току крови немного меньше, чем в артериолах, поскольку капилляры – это узкие, но короткие сосуды. Цепочечный характер кровотока обеспечивает низкое внутреннее сопротивление. В венозном русле сопротивление току крови уменьшается, поскольку просвет сосудов увеличивается. Низкое сопротивление крови в крупных венах облегчает её возврат к сердцу [21].

Считается, что УПСС более точно отражает резистентность сосудистого русла по отношению к антропометрическим параметрам организма. По некоторым данным, сопротивление в периферических сосудах большого круга кровообращения может варьироваться в широких пределах от 1200 до 2500 дин. Однако из-за значительных колебаний этих показателей их нельзя использовать для индивидуальной оценки состояния прекапиллярного русла [21].

Для уточнения показателя Н.Н. Савицким было разработано понятие удельного периферического сопротивления. Определение этого показателя позволяет не только оценить проходимость прекапиллярного русла, но и определить – насколько фактическое сопротивление отличается от индивидуальной нормы для конкретного человека и насколько оно соответствует рабочему сопротивлению.

Р3 УПСС: 35–45 у.е. УПСС представляет собой суммарное сопротивление крови, наблюдаемое в основном, в артериалах. Этот показатель важен для оценки изменения тонуса сосудов при различных физиологических состояниях. При гипертонической болезни имеет место значительный рост УПСС: в покое у таких больных УПСС может достигать значений от 50 до 70 у.е. [22].

Из **табл. 1** следует, что динамика увеличения УПСС вне диапазона Р3 в 4-й и 6-й группах (и минимальное снижение в 7-й группе) свидетельствует об увеличении тонического напряжения артериальных стенок и сопротивления резистивных сосудов, а также о снижении необходимости прекапиллярного русла [22], что указывает на напряжение механизмов адаптации системы кровообращения [16]. Наряду с этим, динамика движения значений в сторону диапазона Р3 в 1-й и 2-й группах и нахождение значений в диапазоне Р3 в 3-й и 5-й группах показывает эффективность реабилитационного лечения.

5. Границы Р3 ДУПСС в доступных литературных источниках (РИНЦ, PubMed) не обнаружены. Исходя из формулы ДУПСС = СрГД/ДСИ рассчитан диапазон значений индекса здорового человека по следующим данным: границы Р3 СрГД составляют 70–100 мм рт. ст. [15]; должный сердечный индекс (ДСИ, $\text{мл}/\text{м}^2$) рассчитывали по формуле: ДСИ = ДМОК/ППТ ($\text{мл}/\text{м}^2$) [7]. Границы Р3 ДМОК: мужчины (7,47–14,95 у.е.), женщины (6,41–10,85 у.е.), а нормальное значение площади абсолютной поверхности тела (ППТ) составляет для женщин 1,71 м^2 и для мужчин 1,91 м^2 [23]. При этом, ДМОК = ДОО/281, где диапазон Р3 ДОО (должный основной обмен) составляет 2100–4200 (мужчины) и 1800–3050 (женщины). Соответственно, диапазон Р3 должного сердечного индекса (ДСИ) в состоянии покоя составляют для мужчин (3,91–7,83), для женщин (3,74–6,35) у.е. Таким образом, значение Р3 ДУПСС составят: для мужчин (9,0–26,0 у.е.), для женщин (11,00–27,00 у.е.).

Исходя из **табл. 1** следует, что ДУПСС имеет положительную динамику и направлены к границам Р3 в 3-й и 7-й группах и отрицательную во 2-й, 4-й, 5-й, 6-й группах, а также и в 1-й группе, учитывая незначительное снижение.

6. КУПСС сравнивает фактические значения параметров гемодинамики с должностными показателями здорового человека и определяет степень необходимости сосудов. Положительная динамика КУПСС наблюдается во 2-й, 5-й и 6-й группах, что указывает на улучшение состояния ССС. Отрицательная динамика во всех остальных группах (в т.ч. 1-й и 3-й, т.к. уменьшение незначительное) свидетельствует о снижении адаптационных возможностей организма при проведении реабилитационных мероприятий и указывает на необходимость их корректировки.

7. Информативным параметром, подтверждающим эффективность реабилитационных физических нагрузок, является индекс работы сердца (ИРС). ИРС характеризует интенсивность сердечной деятельности при мышечной активности, определяет объем крови, выбрасываемой сердцем за одну систолу, и отражает потребление миокардом кислорода. [24, 25]. Границы Р3 ИРС в доступных литературных источниках (РИНЦ, PubMed) не обнаружены. Исходя из формулы, ИРС = УОС/ЧСС, рассчитан диапазон Р3 индекса здорового человека по следующим данным: границы Р3, для ударного объема сердца (УОС) – 50–75 мл., для частоты сердечных сокращений (ЧСС) 60–90 уд/мин [15]. Соответственно, диапазон Р3 ИРС составляет 0,56–1,25 у.е. По мнению отдельных авторов, в норме показатель должен быть больше 1,0 [10]. Автор другой работы считает, что с повышением ИРС от 0,87 до 0,97 у.е. возрастает напряжение функционирования сердечно-сосудистой системы [14]. Наряду с этим, некоторые авторы высказывают мнение, что снижение показателя ИРС [26] на 15,1% ($p<0,05$) с 100,5 до 94,5 (с 1,00 до 0,95 в сопоставимых единицах) свидетельствует о повышении функциональных резервов миокарда и уменьшении его потребности в кислороде [27]. Также утверждается, что снижение ИРС с 1,33 до 0,61 у.е. свидетельствует об оптимизации экономичности движения [25]. Качественная оценка ИРС, представленная в **табл. 2**, определена по динамике увеличения ИРС. Таким образом, с учетом вышеизложенного, положительная динамика наблюдается только в 5-й группе женщин.

8. Границы Р3 ИТС в доступных литературных источниках (РИНЦ, PubMed) не обнаружены. Исходя из формулы, ИРС = ПД/ДАД, рассчитан диапазон Р3 ТРС для здорового человека по следующим данным: границы Р3 для пульсового давления (ПД) 30–50 мм рт. ст. и диастолического АД (ДАД) 60–90 мм рт. ст. [15]. Соответственно, расчетный диапазон Р3 ИТС: 0,33–0,83. Тем не менее, целесообразно определить Р3 ИТС от 0,52 до 0,64 у.е. (ср. значение $+/- 10\%$). Таким образом, ИТС в 1-й, 2-й и 7-й группах находится в границах Р3. Динамика снижения ИТС в сторону Р3 в 3-й, 4-й и 6-й группах мужчин положительна, что свидетельствует о тенденции к снижению напряжения стенок сосудов, улучшению функционирования системы кровообращения и, следовательно, улучшению снабжения кислородом головного мозга. В 5-й группе наблюдается отрицательная динамика.

9. ИПУССК – показатель регуляции сосудистого тонуса. Границы Р3 доступных литературных источниках (РИНЦ, PubMed) не обнаружены. Исходя из формулы, ИПУССК = ИРС×ИТС, рассчитан диапазон значений индекса здорового человека по следующим данным:

границы РЗ: индекс работы сердца (ИРС) 0,56–1,25; индекс тонуса сосудов (ИТС) 0,33–0,83. Соответственно, расчётный диапазон РЗ ИПУССК составит 0,185–1,038 у.е. Целесообразно определить диапазон РЗ: 0,5–0,7 у. ед. (ср. значение $+/- 10\%$), что согласуется с данными других авторов (в норме – больше 0,5 у.е) [10]. Значения ИПУССК ниже 0,5 у.е. указывают на дисрегуляцию сосудистого тонуса в 4-й группе [14]. Значения ИПУССК в пределах РЗ зафиксированы в 1-й, 6-й и 7-й группах и фактически (с минимальными отклонениями) в 2 и 5 группах. Положительная динамика снижения ИПУССК наблюдалась в 3-й группе.

Определение диапазонов РЗ: ДУПСС, ДМОК, ДСИ, ДОО, ППТ, КУПСС, ИРС, ИТС, ИПУССК имеет дискуссионный характер. Авторы будут весьма благодарны всем, кто найдет возможным высказать свои замечания по данному вопросу.

Из таблицы 2 видно, что положительная динамика качественных изменений индексов состояния периферического кровообращения и показателей уравновешенности сердечного и сосудистого компонентов ССС отмечается во всех возрастных группах, кроме группы мужчин 60–67 лет. Таким образом, положительная тенденция функционирования ССС на 2-м этапе проведения реабилитации

Таблица 2/Table 2

Динамика изменений показателей функционирования ССС при проведении реабилитационных мероприятий 2-го этапа у пациентов с нарушением функции ЦНС (n=66)

Dynamics of changes in the indices of cardiovascular system functioning during rehabilitation activities of stage 2 in patients with CNS dysfunction (n=66)

Параметры Parameters	41–59 лет/ years (n=20)				60–67 лет/ years (n=25)				68–83 лет/ years (n=21)				41–83 лет/ years (n=66)	
	1 группа женщины group women (n=7)		2 группа мужчины group men (n=13)		3 группа женщины group women (n=15)		4 группа мужчины group men (n=10)		5 группа женщины group women (n=12)		6 группа мужчины group men (n=9)		7 группа женщины (n=34) + мужчины (n=32) group women (n=34) + men (n=32)	
ОПСС TPVR	-3,10%	+	8,56%	+	-6,17%	+	15,02%	-	-4,46%	+	8,31%	+	-0,22%	+
ДОПСС PTPVR	-8,36%	+	2,89%	-	-1,54%	+	2,87%	-	1,13%	-	-1,53%	+	-1,48%	+
КОПСС KTPVR	0,00%	-	-2,98%	+	0,85%	-	8,90%	-	-2,86%	+	16,92%	-	3,85%	-
УПСС SPVR	-18,05%	+	-3,06%	+	-7,16%	+	17,44%	-	-6,81%	+	6,02%	-	-0,34%	-
ДУПСС PSPVR	-0,03%	-	5,73%	-	-1,98%	+	0,38%	-	5,11%	-	0,78%	-	-2,41%	+
КУПСС KSPVR	-0,86%	-	-1,94%	+	-0,80%	-	14,10%	-	-8,45%	+	-1,69%	+	1,40%	-
ИРС HWI	-5,32%	-	-10,81%	-	0,00%	-	-18,89%	-	4,12%	+	-13,48%	-	-5,26%	-
ИТС VTI	-3,39%	+	-14,52%	+	-9,59%	+	-19,40%	+	1,37%	-	-7,35%	+	-6,67%	+
ИПУССК IIBCVC	-10,71%	+	-26,76%	+	-24,69%	+	-33,87%	-	10,94%	+	-20,63%	+	-18,75%	+
Динамика Dynamics	+		+		+		-		+		+		+	

Примечание. Количественные показатели приведены в %, качественные изменения: «+» – положительные изменения или нахождение показателя в границах референсных значений, «-» – отрицательные изменения или нахождение показателя вне границ референсных значений. ОПСС – общее периферическое сопротивление сосудов; ДОПСС – должное общее периферическое сосудистое сопротивление; коэффициент КОПСС=ОПСС/ДОПСС; УПСС – удельное периферическое сосудистое сопротивление; ДУПСС – должное удельное периферическое сосудистое сопротивление; коэффициент КУПСС=УПСС/ДУПСС; ИРС – индекс работы сердца; ИТС – индекс тонуса сосудов; ИПУССК – интегральный показатель уравновешенности сердечного и сосудистого компонентов.

Note. Quantitative indices are given in %, qualitative changes: “+” – positive changes or the index being within the limits of the reference values, “-” – negative changes or the index being outside the limits of the reference values. TPVR – Total peripheral vascular resistance; PTPVR – Proper total peripheral vascular resistance; The coefficient KTPVR=TPVR / PTPVR; SPVR – Specific peripheral vascular resistance; PSPVR – Proper specific peripheral vascular resistance; The coefficient KSPVR= SPVR / PSPVR; HWI – Heart work index; VTI –Vascular tone index; IIBCVC –Integral indicator of balance of cardiac and vascular components.

онных мероприятий после перенесенного ишемического инсульта отмечается в целом, по всем группам пациентов (n=66), в 83,33% наблюдений.

Заключение

1. Анализ значений индексов состояния периферического кровообращения и показателей уравновешенности сердечного и сосудистого компонентов CCC характеризует эффективность реабилитационного лечения и необходимость его корректировки.

2. У женщин положительная динамика функционирования CCC наблюдается в 1,7 раза чаще, чем у мужчин.

3. Показатели периферического сосудистого сопротивления и уравновешенности сердечно-сосудистой системы, совместно с другими индексами гемодинамики являются основой для разработки плана проведения 3-го этапа реабилитационных мероприятий для пациентов, перенесших ишемический инсульт.

4. Определение границ физиологической нормы отдельных индексов CCC носит дискуссионный характер и нуждается в дополнительной проработке.

Литература (п.п. 19; 20; 23; 26 см. References)

- Макаров К.С., Рудыко И.О. Анализ рисков заболеваний сердечно-сосудистой системы с использованием технологий больших данных. *Auditorium. Электронный научный журнал Курского государственного университета*. 2024; 2(42).
- Уточкин Ю.А., Лобанова Ю.И., Якшина А.Д. Сердечно-сосудистые заболевания в России: обзор статистики. *Наука через призму времени*. 2024; 1(82): 61–3.
- Мирхамидова С.М., Ботирова Н.Б., Камбараева С.А. Особенности распространенности сердечно-сосудистых заболеваний. *Молодой ученый*. 2016; 21(125): 73–6. <https://moluch.ru/archive/125/34513> (дата обращения: 24.04.2025)
- Агаджанян Н.А., Нотова С.В. Стress, физиологические и экологические аспекты адаптации, пути коррекции. Оренбург: ИПК ГОУ ОГУ; 2009. 274 с.
- Баранов В.М., Баевский Р.М., Берсенева А.П., Михайлов В.М. Оценка адаптационных возможностей организма и задачи повышения эффективности здравоохранения. *Экология человека*. 2004; 6: 25–9.
- Баевский Р.М. Концепция физиологической нормы и критерии здоровья. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2003; 89(4): 473–87.
- Спицина Т.А. Сердечный ритм и центральная гемодинамика у лиц молодого возраста с мягкой артериальной гипертензией. *Педагогико-психологические и медико-биологические проблемы физической культуры и спорта*. 2010; 2(15): 103–15.
- Михайлов, В.М. *Вариабельность ритма сердца: опыт практического применения метода*. Иваново: ИГМА; 2000. 200 с.
- Княжев И.С., Карапурова Л.В., Резцов О.В., Спицин А.П. Эконометрическая прогностическая модель оценки функционального состояния организма студентов во время экзаменационной сессии: одномоментное экспериментальное поисковое исследование. Кубанский научный медицинский вестник. 2023; 30(5): 6–76. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2023-30-5-64-76>
- Спицин А.П., Першина Т.А. Особенности гемодинамики у студентов с разным уровнем эмоционального баланса в зависимости от типа ВНС. *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2017; 4: 146–54. <https://doi.org/10.23648/UMBJ.2017.28.8753>
- Ланг Т.А., Сесик М. *Как описывать статистику в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов*. М.: Практическая Медицина; 2011. 480 с.
- Кожухова В.К. Динамика общего периферического сопротивления сосудов в течение года у женщин. *Евразийский Союз Ученых (ЕСУ)*. 2019; 7(64): 4–9. <https://doi.org/10.31618/ESU.2413-9335.2019.2.64.242>
- Куклин В.Н. Возрастные изменения физиологии систем кровообращения и дыхания и особенности анестезиологического обеспечения пациентам старше 60 лет. *Вестник интенсивной терапии имени А.И. Салтанова*. 2019; (4): 47–57. <https://doi.org/10.21320/1818-474X-2019-4-47-57>
- Черепанов С.М., А.П. Спицин А.П. Влияние учебной деятельности в экзаменационные периоды на функциональное состояние организма студентов заочной формы обучения. *Экология человека*. 2008; 09: 3–7.
- Тарабриня Н.Ю., Грабовская Е.Ю., Тарабриня В.А., Абдураманов А.Р. Выраженность основных показателей центральной кардиогемодинамики у борцов различной квалификации. *Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия*. 2018; 4(70): 92–103.
- Беляева В.А. Анализ параметров центральной гемодинамики у студентов-медиков в предэкзаменационном периоде. *Здоровье населения и среда обитания*. 2021; 29(10): 67–73.
- Чиглинцев К.А., Зырянов А.В., Чиглинцев А.Ю. Интрапенальная и центральная гемодинамики после травмы почки Grade III: существует ли прямая причинно-следственная связь с посттравматической артериальной гипертензией? *Экспериментальная и клиническая урология* 2023; 16(3): 38–49.
- Савицкий Н.Н. *Биофизические основы кровообращения и клинические методы изучения гемодинамики*. Л.: Медицина; 1974. 313 с.
- Зарифьян А.Г., Конюнек И.Е., Джайлобаева Э.А., Наумова Т.Н. *Физиология гемодинамики*. Учебное пособие. Бишкек: Изд-во КРСУ; 2011.
- Шпак Л.В., Галошина Е.С., Еремеев А.Г. Гемодинамические показатели у больных артериальной гипертензией в пред и послеоперационном периоде при лапароскопической холецистэктомии. *Российский кардиологический журнал*. 2013; 1(99): 86–92.
- Князюк О.О., Абрамович С.Г., Амосова Т.Л., Кривоцкова Е.В. Метод «Скандинавской ходьбы» в реабилитации больных инфарктом миокарда на Иркутском курорте «Ангара». *Здоровье. Медицинская экология*. 2014; 2(56): 83–6.
- Неупокоев С.Н., Бредихина Ю.П., Иноzemцева Т.А., Ромашов Н.М., Дронов О.В., Лосон Е.В. Влияние разнонаправленных средств СФП в боксе на показатели аэробной выносливости и сердечной деятельности у спортсменов старших разрядов. *Физическая культура, здравоохранение и образование. Материалы XVI Международной научно-практической конференции, посвященной памяти В.С. Пирусского. Под редакцией Е.Ю. Дьяковой*. Томск: ООО «СТТ»; 2022.
- Абрамович С.Г., Машанская А.В., Денисенко Н.В., Зубрей С.А., Плужников А.В. Эффективность пелоидотерапии в санаторно-курортном лечении больных артериальной гипертонией. *Физиотерапия, бальнеология и реабилитация*. 2012; 11(4): 14–7.

References

1. Makarov K.S., Rudyko I.O. Cardiovascular disease risk analysis using big data technologies. *Auditorium. Elektronnyi nauchnyi zhurnal Kurskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2024; 2(42). (in Russian)
2. Utochkin Yu.A., Lobanova Yu.I., Yakshina A.D. Cardiovascular diseases in Russia: statistical review. *Nauka cherez prizmu vremeni*. 2024; 1(82): 61–3. (in Russian)
3. Mirhamidova S.M., Botirova N.B., Kambarova S.A. Features of the prevalence of cardiovascular diseases. *Molodoi uchenyi*. 2016; 21(125): 73–6. URL: <https://moluch.ru/archive/125/34513> (accessed: 24.04.2025). (in Russian)
4. Agadzhanyan N.A., Notova S.V. Stress, physiological and ecological aspects of adaptation, ways of correction. Orenburg: IPK GOU; 2009. 274 p. (In Russian)
5. Baranov V.M., Baevskij R.M., Berseneva A.P., Mihajlov V.M. Assessment of the body's adaptive capacity and tasks of improving the efficiency of healthcare. *Ekologiya cheloveka*. 2004; 6: 25–9. (in Russian)
6. Baevskij R.M. The concept of physiological norm and health criteria. *Rossiyskii fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2003; 89(4): 473–87. (in Russian)
7. Spycyna T.A. Heart rhythm and central hemodynamics in young individuals with mild arterial hypertension. *Pedagogiko-psichologicheskie i mediko-biologicheskie problemy fizicheskoi kul'tury i sporta*. 2010; 2(15): 103–15. (in Russian)
8. Mikhaylov V.M. *Variability of a heart rhythm. Experience of practical application of a method*. Ivanovo: IGMA; 2002. 200 p. (in Russian)
9. Knyazhev I.S., Karaulova L.V., Reztsov O.V., Spitsin A.P. Econometric predictive model for assessing the functional state of students' bodies during examination sessions: a cross-sectional experimental exploratory study. *Kubanskii nauchnyi meditsinskii vestnik*. 2023; 30(5): 64–76. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2023-30-5-64-76> (in Russian)
10. Spicyn A.P., Pershina T.A. Features of hemodynamics in students with different levels of emotional balance depending on the type of autonomic nervous system. *Ul'yanovskii mediko-biologicheskii zhurnal*. 2017; 4: 146–54. <https://doi.org/10.23648/UMBJ.2017.28.8753> (in Russian)
11. Lang T.A., Sesik M. *How to describe statistics in medicine. A handbook for authors, editors and reviewers*. Moscow: Prakticheskaya Medicina; 2011. (in Russian)
12. Kozhuhova V.K. Dynamics of total peripheral vascular resistance during the year in women. *Evraziyskii Soyuz Uchenykh (ESU)*. 2019; 7(64): 4–9. <https://doi.org/10.31618/ESU.2413-9335.2019.2.64.242> (in Russian)
13. Kuklin V.N. Age-related changes in physiology of blood circulation, breath and appropriate anaesthetic considerations in patients older than 60 years. *Vestnik intensivnoi terapii imeni A.I. Saltanova*. 2019; (4): 47–57. <https://doi.org/10.21320/1818-474X-2019-4-47-57> (in Russian)
14. Cherepanov S.M., Spicin A.P. The influence of educational activities during examination periods on the functional state of the body of female correspondence students. *Ekologiya cheloveka*. 2008; 09: 3–7. (in Russian)
15. Tarabrina N.Yu., Grabovskaya E.Yu., Tarabrina V.A., Abduramanov A.R. The severity of the main indicators of central cardiohemodynamics in wrestlers of various qualifications. *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo Biologiya. Khimiya*. 2018; 4(70): № 1: 92–103. (in Russian)
16. Belyaeva V.A. Analysis of central hemodynamic parameters in medical students in the pre-examination period. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2021; 29(10): 67–73. (in Russian)
17. Chiglincev K.A., Zyryanov A.V., Chiglincev A.Yu. Intrarenal and central hemodynamics after Grade I III renal injury: is there a direct causal relationship with posttraumatic hypertension? *Eksperimental'naya i klinicheskaya urologiya* 2023; 16(3): 38–49. (in Russian)
18. Savitskiy N.N. *Biophysical principles of blood circulation and clinical methods of hemodynamics study*. Leningrad: Meditsina; 1974. 313 p. (in Russian)
19. Frankenfeld D., Roth-Yousey L., Compher C. Comparison of predictive equations for resting metabolic rate in healthy nonobese and obese adults: a systematic review. *J Am Diet Assoc*. 2005; 105(5): 775–89. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2005.02.005>
20. Harris J.A., Benedict F.G. A Biometric Study of Human Basal Metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1918; 4(12): 370–3. <https://doi.org/10.1073/pnas.4.12.370>
21. Zarif'yan A.G., Kononec I.E., Dzhajlobaeva E.A., Naumova T.N. *Physiology of hemodynamics. Textbook*. Bishkek: Izd-vo KRSU; 2011. (in Russian)
22. Shpak L.V., Galoshina E.S., Eremeev A.G. Hemodynamic parameters in patients with arterial hypertension in the pre- and postoperative period during laparoscopic cholecystectomy. *Rossiyskiy kardiologichesky zhurnal*. 2013; 1(99): 86–92. (in Russian)
23. Sparreboom A., Verweij J (15 Jul 2003). «Paclitaxel Pharmacokinetics, Threshold Models, and Dosing Strategies». *Journal of Clinical Oncology*. 2003; 21(14): 2803–4. <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.99.038>
24. Knyazuk O.O., Abramovich S.G., Amosova T.L., E.V. Krivoschikova E.V. The «Nordic walking» method in the rehabilitation of patients with myocardial infarction at the Irkutsk resort «Angara». *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya*. 2014; 2(56): 83–6. (in Russian)
25. Neupokoev S.N., Bredihina Yu.P., Inozemceva T.A., Romashov N.M., Dronov O.V., Loson E.V. The influence of multidirectional SFP means in boxing on the indices of aerobic endurance and cardiac activity in senior athletes. *Fizicheskaya kul'tura, zdravookhranenie i obrazovanie. Materialy XVI Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi pamyati V.S. Pirusskogo*. Ed by D'yakova E.Yu. Tomsk: OOO «STT»; 2022. (in Russian)
26. Boer P., Roos G.C., Geyskes G.G., Mees E.J. Measurement of cardiac output by impedance cardiography under various conditions. *Am. J. Physiol.* 1979; 237(4): 491–6.
27. Abramovich S.G., Mashanskaya A.V., Denisenko N.V., Zubrey S.A., Pluzhnikov A.V. The effectiveness of peloidotherapy in spa treatment of patients with arterial hypertension. *Fizioterapiya, bal'neologiya i reabilitatsiya*. 2012; 11(4): 14–7. (in Russian)

Сведения об авторах:

Иванов Кирилл Петрович, аспирант каф. общей патологии Института высшего и ДПО ФНКЦ РР Минобрнауки; науч. сотр. отдела клинико-физиологических исследований и экспертизы ГНЦ РФ – Института медико-биологических проблем РАН;

Долгих Владимир Терентьевич, доктор мед. наук, проф., заслуженный деятель науки РФ, гл. науч. сотр., «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского»; зав. каф. общей патологии Института высшего и ДПО ФНКЦ РР Минобрнауки.

Калитин К.Ю.^{1,2,3}, Муха О.Ю.^{1,2}, Войнов В.Б.³

Биопотенциал-опосредованный подход к анализу эффектов производного бензимидазола с 5-HT_{2A} антагонистической активностью и оценка его антипсихотической активности на модели неонатальной деструкции гиппокампа у крыс

¹ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, 400131, Волгоград, Россия, пл. Павших Борцов, д. 1;

²Научный центр инновационных лекарственных средств ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, 400087, Волгоград, Россия, ул. Новороссийская, д. 39;

³ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», 344006, Ростов-на-Дону, Россия, ул. Большая Садовая, д. 105/42

Введение. В последние годы активно изучается роль серотонинергической системы в патогенезе шизофрении, уделяется особое внимание 5-HT_{2A} рецепторам как потенциальным фармакологическим мишениям. Цель исследования – оценить антипсихотическую активность нового производного бензимидазола РУ-31 с 5-HT_{2A} антагонистической активностью, используя методы анализа биоэлектрической активности мозга и поведенческие тесты на модели психоза, вызванного неонатальной деструкцией центрального гиппокампа у крыс.

Методика. Крысам (250-290 г) выполняли имплантацию электродов для регистрации биоэлектрической активности мозга, обработку данных осуществляли с помощью сверточного автоэнкодера и алгоритма UMAP, проводили расчет расстояний между кластерами сигналов в параметрическом пространстве. Изменения активности мозга после введения вещества РУ-31 сравнивали с выборкой референтных препаратов (хлорпромазин, галоперидол, клозапин, рисперидон, кветиапин, амитриптилин, флуоксетин, пароксетин, эсциталопрам, кетансерин, ципропентадин, гидроксизин, суматриптан, ондансетрон, атропин, супрастин). В следующей серии опытов, у крыс моделировали психоз путем двусторонней инъекции иботеновой кислоты (1,5 мкг) в центральный гиппокамп на 7-й день постнатального развития. Были выделены группы: контроль (физиологический раствор 10 мл/кг); РУ-31 (10 мг/кг); клозапин (7,5 мг/кг) и ложнооперированные животные, поведение которых затем оценивали в установке открытого поля, в teste на социальное взаимодействие и teste распознавания нового объекта.

Результаты. Анализ изменений биоэлектрической активности мозга показал высокое сходство вещества РУ-31 с клозапином (коэффициент сходства 0,764) и кетансерином (коэффициент сходства 0,756). В teste «Открытое поле» животные после инъекции иботеновой кислоты показали гиперлокомоцию (Me=98 пересечений, IQR=50, p<0,01). Введение РУ-31 привело к ее снижению (Me=58, IQR=38,75, p<0,05), аналогичное действие оказывал клозапин (Me=47, IQR=40, p<0,01). В teste на социальное взаимодействие РУ-31 увеличивал время активного поведения до Me=227,6 с (IQR=59,5, p<0,05), тогда как клозапин не оказал значимого эффекта (Me=152,8, IQR=91,4, p>0,05). В teste распознавания нового объекта РУ-31 и клозапин увеличивали коэффициент дискриминации в фазе долговременного удержания (Me=0,73, IQR=0,34 и Me=0,68, IQR=0,32, p<0,05 соответственно).

Заключение. Результаты исследования подтверждают антипсихотический потенциал РУ-31, особенно в коррекции негативной и когнитивной симптоматики, что делает его перспективным кандидатом для лечения резистентных психотических расстройств.

Ключевые слова: 5-HT_{2A} рецепторы; атипичные антипсихотики; шизофрения; ЭЭГ; моделирование психоза

Для цитирования: Калитин К.Ю., Муха О.Ю., Войнов В.Б. Биопотенциал-опосредованный подход к анализу эффектов производного бензимидазола с 5-HT_{2A} антагонистической активностью и оценка его антипсихотической активности на модели неонатальной деструкции гиппокампа у крыс. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2025; 69(3): 63–73.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.63-73

Участие авторов: концепция и дизайн исследования, написание и редактирование текста – Калитин К.Ю.; сбор и статистическая обработка данных, написание и редактирование текста – Муха О.Ю.; анализ литературных данных, написание и редактирование текста – Войнов В.Б. Утверждение окончательного варианта статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Муха Ольга Юрьевна, e-mail: olay.myha14@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 28.06.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Kalitin K.Yu.^{1,2,3}, Mukha O.Yu.^{1,2}, Voynov V.B.³**A biopotential-mediated approach to studying the effects of a benzimidazole derivative with 5-HT_{2A} antagonist activity and evaluating its antipsychotic effects in the neonatal hippocampal lesion model in rats**¹ Volgograd State Medical University, 1 Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, 400131, Russian Federation;² Scientific Center for Innovative Drugs, 39 Novorossiyskaya St., Volgograd, 400087, Russian Federation;³ Southern Federal University, 105/42 Bolshaya Sadovaya St., Rostov-on-Don, 344006, Russian Federation

Introduction. In recent years, the role of the serotonergic system in the pathogenesis of schizophrenia has been extensively studied with a particular focus on 5-HT_{2A} receptors as pharmacological targets. The aim of the study was to evaluate the antipsychotic activity of the novel benzimidazole derivative, RU-31, with a 5-HT_{2A} antagonist activity by analysis of brain bioelectrical activity and behavioral tests in a rat model of psychosis induced by neonatal ventral hippocampal lesions.

Methods. Rats (250-290 g) were implanted with electrodes to record the bioelectrical activity of the brain. Data were processed using a convolutional autoencoder and the UMAP algorithm, and then distances between signal clusters in the parametric space were calculated. Changes in the brain activity after the administration of RU-31 were compared with reference drugs (chlorpromazine, haloperidol, clozapine, risperidone, quetiapine, amitriptyline, fluoxetine, paroxetine, escitalopram, ketanserin, cyproheptadine, hydroxyzine, sumatriptan, ondansetron, atropine, suprastin). Psychosis was modeled in rats by bilateral injection of ibotenic acid (1.5 µg) into the ventral hippocampus on postnatal day 7. The following groups were formed: control (saline 10 ml/kg); RU-31 (10 mg/kg); clozapine (7.5 mg/kg), and sham-operated animals. The groups were then evaluated using the open field test, social interaction test, and novel object recognition test.

Results. Analysis of the brain bioelectrical activity showed that RU-31 had a high degree of similarity to both clozapine (similarity coefficient 0.764) and ketanserin (similarity coefficient 0.756). In the open field test, rats with ibotenic acid-induced lesions displayed hyperlocomotion (Me = 98 crossings, IQR = 50, $p < 0.01$). Administration of RU-31 significantly reduced hyperlocomotion (Me = 58, IQR = 38.75, $p < 0.05$), with a comparable effect observed for clozapine (Me = 47, IQR = 40, $p < 0.01$). In the social interaction test, RU-31 significantly increased the active behavior duration (Me = 227.6 s, IQR = 59.5, $p < 0.05$), whereas clozapine did not induce a statistically significant effect (Me = 152.8, IQR = 91.4, $p > 0.05$). In the novel object recognition test, RU-31 and clozapine enhanced the discrimination index in the long-term retention phase (Me=0.73, IQR=0.34, and Me=0.68, IQR=0.32, $p < 0.05$, respectively).

Conclusion. The findings confirm the antipsychotic potential of RU-31, particularly in addressing negative and cognitive symptoms, suggesting its promise as a candidate for treating refractory psychotic disorders.

Keywords: 5-HT_{2A} receptors; atypical antipsychotics; schizophrenia; EEG; psychosis modeling

For citation: Kalitin K.Yu., Mukha O.Yu., Voynov V.B. A biopotential-mediated approach to studying the effects of a benzimidazole derivative with 5-HT_{2A} antagonist activity and evaluating its antipsychotic effects in the neonatal ventral hippocampal lesion model in rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(3): 63–73. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.63-73

Author's contribution: concept and design of the study, writing, and text editing – Kalitin K.Yu.; data collection, statistical processing, writing, and text editing – Mukha O.Yu.; literature analysis, writing, and text editing – Voynov V.B. Approval of the final version of the article – all co-authors.

For correspondence: Olga Yu. Mukha, e-mail: olay.myha14@gmail.com

Information about the authors:Kalitin K.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-0079-853X>Mukha O.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-0429-905X>Voynov V.B., <https://orcid.org/0000-0002-0242-6270>

Financing. The work had no sponsorship.

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

Received 28.06.2025

Accepted 25.08.2025

Published 30.09.2025

Введение

Шизофрения является одним из наиболее серьезных инвалидизирующих психических расстройств, которое по-

ражает около 1% населения во всем мире [1]. Основные клинические проявления шизофрении включают позитивные (галлюцинации, бред, расстройства мышления), негативные (снижение эмоциональной реакции, отсутствие

мотивации и социальной активности) и когнитивные нарушения (ослабление памяти, внимания и исполнительных функций) [2]. Несмотря на значительный прогресс в понимании патофизиологических механизмов шизофрении, фармакотерапия данного заболевания остается одной из наиболее сложных задач в современной психиатрии. Современные антипсихотические препараты, в первую очередь воздействующие на дофаминергическую систему, обладают значительным терапевтическим потенциалом в отношении позитивных симптомов. Однако они зачастую оказываются неэффективными в отношении негативных симптомов и когнитивных нарушений, а также ассоциируются с выраженным побочными эффектами, что ограничивает их применение и требует поиска новых, более эффективных и безопасных подходов к лечению [3].

В последние годы все больше внимания уделяется роли серотонинергической системы в патогенезе шизофрении [4]. Исследования показывают, что у пациентов с шизофренией наблюдаются изменения в уровнях серотонина и его метаболитов, а также в экспрессии и функции серотониновых рецепторов. Особое значение придается 5-HT_{2A} рецепторам, антагонисты которых, такие как клозапин и рисперидон, проявляют высокую эффективность в лечении шизофрении, воздействуя как на позитивные, так и на негативные симптомы [5].

Электрокортографические методы широко применяются в нейрофармакологических исследованиях [6]. Ранее нами была разработана технология оценки психотропного действия веществ на основе нейросетевой классификации сигналов биоэлектрической активности мозга [7]. Предложенный подход позволяет оценивать эффекты новых соединений в сравнении с референсной выборкой веществ. В настоящей работе проведен анализ сходства производного 1-(2-диэтиламиноэтил)-2-(4-метоксифенил)-имидазол[1,2-а]бензимидазола (соединение РУ-31), проявившего 5-HT_{2A} антагонистическую активность *in vitro* [8], с лекарственными препаратами, механизм действия и эффекты которых связаны с патогенезом психотических состояний, в латентном пространстве признаков, извлеченных из электроэнцефалографических сигналов.

Для оценки антипсихотического действия химических соединений используются различные экспериментальные модели, которые воспроизводят отдельные аспекты психотических расстройств. Одной из наиболее хорошо изученных и высоковалидных является модель, основанная на введении иботеновой кислоты в центральный гиппокамп новорожденных крыс [9]. Иботеновая кислота является нейротоксином, который избирательно разрушает нейроны в области инъекции, вызывая структурные и функциональные изменения в гиппокампе и других областях мозга, аналогичные тем, что наблюдаются у пациентов с шизофренией.

Животные с индуцированным поражением гиппокампа демонстрируют ряд поведенческих нарушений, которые рассматриваются как аналоги позитивных, негативных и когнитивных симптомов шизофрении, включая гиперлокомоцию, снижение социального взаимодействия и нарушение распознавания нового объекта.

Цель исследования – изучение эффектов производного бензимидазола РУ-31 с 5-HT_{2A} антагонистической активностью, используя биопотенциал-опосредованный подход с последующей верификацией антипсихотической активности на модели психотического расстройства, вызванного неонатальной деструкцией центрального гиппокампа.

Методика

Для экспериментов использовали белых нелинейных крыс-самцов массой 250–290 г, выведенных в условиях вивария НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Животных содержали в стандартных условиях вивария при 12-часовом световом цикле, диапазон температур составлял 22±2°C, со свободным доступом к пище и воде. Исследования проводились в соответствии с Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), а также принципам надлежащей лабораторной практики (GLP) (ГОСТ 33044-2014, 2021). Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (Регистрационный номер IRB00005839 IORG0004900, справка №2024/221 от 03.04.2024).

Электрофизиологические исследования. Имплантация корковых электродов (фронтальная область: AP = 0,0 мм, ML = ±2,0 мм; теменная область: AP = -4,08 мм, ML = ±2,0 мм; окципитальная область: AP = -7,08 мм, ML = ±2,0 мм; референсный и заземляющий электроды располагали над обонятельной луковицей: AP = +6,6 мм, ML = ±2,0 мм), регистрация электрокортографических (ЭКоГ) сигналов и последующий анализ данных выполнялись по методике, описанной ранее [7]. Применялся перекрестный дизайн исследований, в котором каждое животное (n=46) в утренние часы получало одно вещество, выбранное случайным образом. Различные препараты вводились в разные дни, при этом между введением веществ соблюдалась перерыв, равный не менее 3 периодам полуыведения.

В исследовании проводилась оценка препаратов и экспериментальных соединений с антипсихотической активностью, включая серотонинергические вещества с иными эффектами (табл. 1). Учитывая фармакологическую гетерогенность выборки веществ, эквивалентные дозы подбирались исходя из максимальной дозы с коэффициентом пересчета с человека на крыс [10], либо использова-

лись максимальные дозы для экспериментальных веществ по литературным данным. Экспериментальное вещество РУ-31 вводилось в дозе, соответствующей ЭД80 (10 мг/кг). Итоговый датасет электрокортикографических сигналов содержал записи, общей продолжительностью 20 мин для каждого вещества, полученные от различных животных.

Полученные сигналы мозговой активности обрабатывались с помощью автоэнкодера, построенного на базе сверточных нейронных сетей¹. Извлеченные из сигналов признаки (являющиеся параметрами бутилочного горлышка автоэнкодера) для каждого класса веществ анализировали с помощью алгоритма UMAP [11]. На заключительном этапе сравнивали близость параметров сигналов, полученных после введения референсных и экспериментального веществ, в многомерном пространстве признаков, на основании чего делали вывод о сходствах и различиях в изменениях биоэлектрической активности мозга.

Моделирование психоза. На 7-й день постнатального развития крысы были распределены в группы оперированных и ложнооперированных (ЛО) животных и подвергнуты анестезии путем гипотермии (15 минут на влажном льду). Животных фиксировали в стереотаксическом аппарате. На область головы наносили лидокаин, после чего выполняли разрез для обнажения черепа. Билатерально в центральный гиппокамп (AP -3,0; ML ±3,5; DV -5,0 относительно брегмы) вводили 1,5 мкг иботеновой кислоты (Sigma, США) в объеме 0,3 мкл искусственной спинномозговой жидкости (ACSF) в группе оперированных животных со скоростью 0,15 мкл/мин. После операции животных согревали и возвращали обратно в клетку. Отлучение потомства от самки проводили на 25-й день постнатального развития.

С 35 дня животным начали вводить либо исследуемые соединения, либо физиологический раствор (контроль) на протяжении 21 дня. Животных распределили на подгруппы: 1 ($n=9$) – иботеновая кислота (ИК) + физиологический раствор 10 мл/кг, внутрибрюшинно (в/б); 2 ($n=8$) – ИК + соединение РУ-31 10 мг/кг, в/б (ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Россия); 3 ($n=8$) – ИК + клозапин, в/б (Органика, Россия) 7,5 мг/кг; 4 ($n=10$) – ЛО + физиологический раствор 10 мл/кг, в/б.

С 56 дня проводили поведенческое тестирование. Локомоторную активность оценивали в установке «Открытое поле» (квадратная аrena 97×97×40 см, освещение 50 лк), регистрируя в течение 10 минут количество пересеченных линий. Для оценки негативной симптоматики использовали тест социального взаимодействия: двух животных, ранее не контактировавших друг с другом, из одной экспериментальной группы помещали в новую для них камеру

и в течение 10 минут регистрировали элементы активного социального поведения (обнюхивание, социальный груминг, следование и наскакивание). Итоговые данные выражали как среднее время, проведенное в активном социальном поведении, для каждой пары. Когнитивные нарушения исследовали в тесте распознавания нового объекта. После фазы ознакомления с двумя идентичными объектами, через 2 и 24 часа один из них заменяли на новый. Память оценивали по коэффициенту дискриминации, который рассчитывался по формуле: $KD = (Tn - Tz) / (Tn + Tz)$, где Tn и Tz – время исследования нового и знакомого объекта соответственно.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы GraphPad Prism 10.1, применялась непараметрическая оценка с помощью критерия Краскела-Уоллиса и апостериорного теста Данна. Результаты исследования представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала (IQR). Статистически значимыми считались различия между группами при $p < 0,05$.

Результаты

В ходе проведенного анализа с использованием алгоритма UMAP достигнуто успешное разделение данных на отдельные кластеры, что свидетельствует о наличии специфического влияния каждого из тестируемых психотропных веществ на электроэнцефалографические показатели (рис. 1). Полученные кластеры репрезентуют совокупности ЭКоГ сигналов, обладающие высокой степенью сходства параметров и зафиксированные с наибольшей вероятностью под воздействием одного и того же вещества.

Коэффициенты сходства, выделенные синим цветом, указывают на пары препаратов с наиболее схожими эффектами (рис. 2). Типичные антидепрессанты хлорпромазин и галоперидол продемонстрировали высокое сходство (0,837), что объясняется их антагонизмом к D_2 -рецепторам. Атипичные антидепрессанты клозапин, рисперидон и кветиапин также показали высокую степень подобия (0,884–0,915), что согласуется с их полимодальным воздействием на дофаминергическую и серотонинергическую системы.

Несмотря на принадлежность к разным классам, амитриптилин и эсциталопрам проявили значительное сходство эффектов (0,731), что может быть обусловлено их влиянием на серотонинергическую передачу. Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина флуоксетин и эсциталопрам продемонстрировали почти идентичные эффекты (0,964).

Антигистаминные препараты ципрогептадин и гидроксизин показали умеренное сходство с супрастином (0,663 и 0,745 соответственно), что объясняется их антагонизмом к H_1 -рецепторам.

¹<https://github.com/neuroeeg/ANN4EEG>

Список референсных веществ, использованных в электрофизиологических исследованиях

List of reference compounds used in electrophysiological studies

Вещество Substance	Доза (мг/кг) Dose (mg/kg)	Механизм действия Mechanism of action	Дополнительные мишени Additional targets
Хлорпромазин Chlorpromazine	35,0	Анtagонист D ₂ рецепторов D ₂ receptor antagonist	Анtagонист D ₃ и D ₅ рецепторов D ₃ and D ₅ receptor antagonist
Галоперидол Haloperidol	3,0	Анtagонист D ₂ рецепторов D ₂ receptor antagonist	Анtagонист H ₁ и α1-адренергических рецепторов H ₁ and α1-adrenergic receptor antagonist
Клоzapин Clozapine	15,8	Анtagонист 5-HT _{2A} и D ₂ рецепторов 5-HT _{2A} and D ₂ receptor antagonist	Анtagонист α1-адренергических и H ₁ рецепторов α1-adrenergic and H ₁ receptor antagonist
Рисперидон Risperidone	1,35	Обратный агонист 5-HT _{2A} , 5-HT _{2C} рецепторов; Анtagонист D ₂ рецепторов Inverse agonist of 5-HT _{2A} , 5-HT _{2C} receptors; D ₂ receptor antagonist	Анtagонист α1 и α2-адренергических рецепторов; Обратный агонист H ₁ рецепторов α1- and α2-adrenergic receptor antagonist; H ₁ receptor inverse agonist
Кветиапин Quetiapine	17,43	Частичный агонист 5-HT _{1A} рецепторов; Анtagонист 5-HT _{2A} , 5-HT _{2C} рецепторов; Анtagонист D ₂ рецепторов Partial agonist of 5-HT _{1A} receptors; Antagonist of 5-HT _{2A} , 5-HT _{2C} receptors; D ₂ receptor antagonist	Анtagонист 5-HT ₆ рецепторов; Анtagонист D ₄ , D ₅ рецепторов; Анtagонист α1-адренергических и H ₁ рецепторов 5-HT ₆ receptor antagonist; D ₄ and D ₅ receptor antagonist; α1-adrenergic and H ₁ receptor antagonist
Амитриптилин Amitriptyline	18,9	Блокирует нейрональный захват серотонина (SERT) и норадреналина (NET) Inhibits serotonin (SERT) and norepinephrine (NET) reuptake	Анtagонист 5-HT _{2A} , 5-HT _{2C} рецепторов; Анtagонист H ₁ рецептора 5-HT _{2A} and 5-HT _{2C} receptor antagonist; H1 receptor antagonist
Флуоксетин Fluoxetine	6,7	Блокирует нейрональный захват серотонина (SERT) Inhibits serotonin (SERT) reuptake	Конкурентный и обратимый анtagонист 5-HT _{2C} рецептора Competitive reversible 5-HT _{2C} receptor antagonist
Пароксетин Paroxetine	4,2	Селективный ингибитор нейронального захвата серотонина (SERT) Selective serotonin reuptake inhibitor (SERT)	—
Эсциталопрам Escitalopram	2,36	Селективный ингибитор нейронального захвата серотонина (SERT) Selective serotonin reuptake inhibitor (SERT)	Слабый анtagонист 5-HT _{2A} , 5-HT _{2C} , 5-HT _{1A} , D ₂ , H ₁ , α1 и α2 рецепторов (клинически незначимо) Weak antagonist of 5-HT _{2A} , 5-HT _{2C} , 5-HT _{1A} , D ₂ , H ₁ , α1 and α2 receptors (clinically insignificant)
Кетансерин Ketanserin	1,0	Специфический анtagонист 5-HT ₂ рецепторов Specific 5-HT ₂ receptor antagonist	Анtagонист H ₁ рецептора H ₁ receptor antagonist
Ципрохептадин Ciproheptadine	2,7	Обратный агонист H ₁ рецепторов H ₁ receptor inverse agonist	Анtagонист M ₁ , M ₂ , M ₃ -холинорецепторов; Анtagонист 5-HT _{2A} , 5-HT _{2B} , 5-HT _{2C} рецепторов M ₁ , M ₂ , M ₃ muscarinic receptor antagonist; 5-HT _{2A} , 5-HT _{2B} , 5-HT _{2C} receptor antagonist
Гидроксизин Hydroxyzine	25,3	Селективный обратный агонист H ₁ рецепторов Selective H ₁ receptor inverse agonist	Анtagонист 5-HT _{2A} , D ₂ и α1-адренергических рецепторов 5-HT _{2A} , D ₂ and α1-adrenergic receptor antagonist
Суматриптан Sumatriptan	8,3	Агонист 5-HT _{1B/1D} рецепторов 5-HT _{1B/1D} receptor agonist	Слабый агонист 5-HT _{1A} Weak 5-HT _{1A} receptor agonist
Ондансетрон Ondansetron	2,7	Блокатор 5-HT ₃ рецепторов 5-HT ₃ receptor blocker	Снижает рилизинг дофамина Reduces dopamine release
Атропин Atropine	0,25	Неселективный анtagонист M-холинорецепторов Nonselective muscarinic receptor antagonist	—
Супрастин Suprastin	16,9	Анtagонист H ₁ рецепторов H ₁ receptor antagonist	—

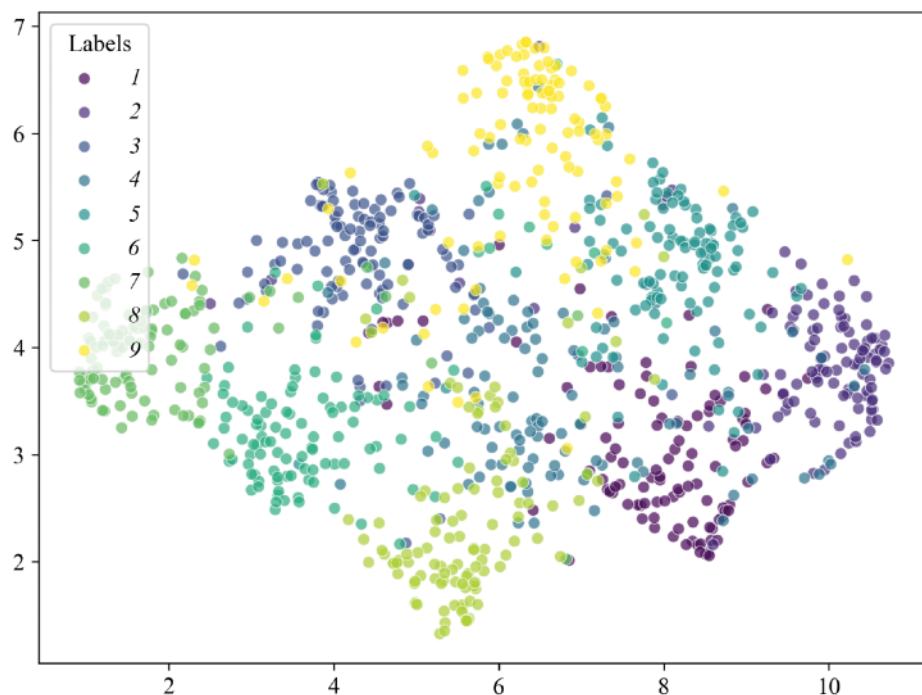


Рис. 1. UMAP-карта распределения параметров ЭЭГ сигналов, полученных на фоне действия 9 различных психотропных веществ и спроектированных в двумерное пространство с настройками: $n_{neighbors}=15$; $min_dist=0.1$; $n_{components}=2$; $metric=euclidean$. Обозначения: 1 – клозапин; 2 – галоперидол; 3 – суматриптан; 4 – ципрохептадин; 5 – кетансерин; 6 – амитриптилин; 7 – флуоксетин; 8 – гидроксизин; 9 – ондансетрон.

Fig. 1. UMAP visualization of EEG signal parameters obtained under the influence of 9 different psychotropic substances and projected into two-dimensional space with the following settings: $n_{neighbors}=15$; $min_dist=0.1$; $n_{components}=2$; $metric=euclidean$. Key: 1 – Clozapine; 2 – Haloperidol; 3 – Sumatriptan; 4 – Cyproheptadine; 5 – Ketanserin; 6 – Amitriptyline; 7 – Fluoxetine; 8 – Hydroxyzine; 9 – Ondansetron.

Производное бензимидазола РУ-31 проявило наибольшее сходство с атипичным антипсихотиком клозапином и антагонистами 5-HT_{2A} рецепторов кетансерином и ципрохептадином, что указывает на его потенциальную нейролептическую активность (**табл. 2**).

Статистический анализ локомоторной активности в teste «Открытое поле» с помощью критерия Краскела-Уоллиса показал наличие значимых различий между экспериментальными группами ($H=18,66$, $p=0,0003$). У животных группы контроля заболевания наблюдалось значимое увеличение двигательной активности по сравнению с ложнооперированной группой ($Me=98$, $IQR=50$; $p<0,01$) (**рис. 3, а/а**). Соединение РУ-31 приводило к снижению данного показателя ($Me=58$, $IQR=38,75$; $p<0,05$), равно как и применение препарата сравнения клозапина ($Me=47$, $IQR=40$; $p<0,01$), по сравнению с животными, не получавшими лечение (**рис. 3, а/а**). Наблюдаемое снижение локомоторной активности под действием как РУ-31, так и клозапина может свидетельствовать об их потенциальной антипсихотической активности в данной экспериментальной модели.

В teste на социальное взаимодействие также были выявлены статистически значимые межгрупповые различия (критерий Краскела-Уоллиса, $H=19,26$, $p=0,0002$). В частности, у животных с моделью психоза наблюдалось статистически значимое снижение времени, проведенного в активном социальном поведении, по сравнению с группой негативного контроля ($Me=153,8$, $IQR=62,6$; $p<0,001$) (**рис. 3, б/б**). Соединение РУ-31 у оперированных животных приводило к статистически значимому увеличению времени социального взаимодействия ($Me=227,6$, $IQR=59,5$; $p<0,05$), в то время как клозапин не оказал статистически значимого влияния на данный показатель ($Me=152,8$, $IQR=91,4$; $p>0,05$) по сравнению с животными, не получавшими лечение (**рис. 3, б/б**). Полученные результаты указывают на способность соединения РУ-31 ослаблять негативную симптоматику в данной экспериментальной модели психоза, что проявляется в улучшении социального взаимодействия животных.

При анализе коэффициента дискриминации в teste на распознавание нового объекта не было обнаружено значимых различий между группами в фазе кратковремен-

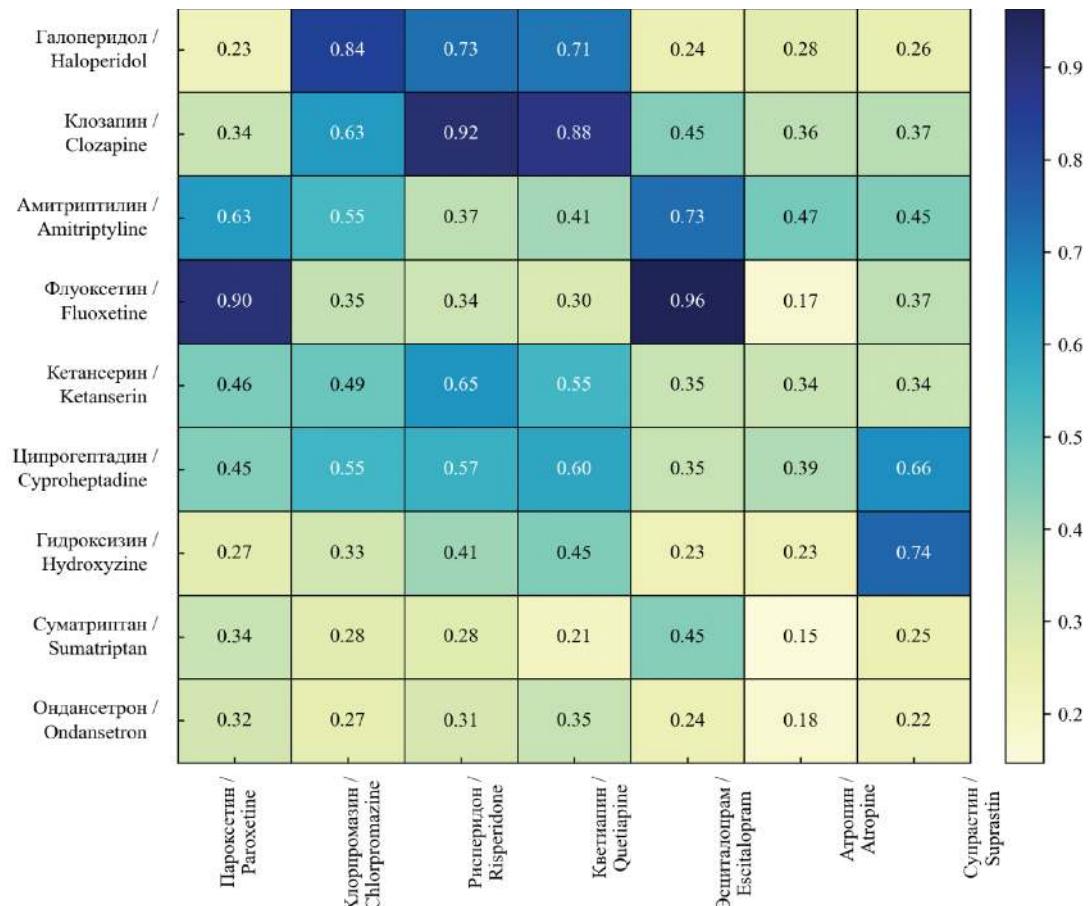


Рис. 2. Относительная близость кластеров ЭЭГ-сигналов в параметрическом пространстве. Коэффициенты сходства безразмерны, относительны и вычисляются как расстояния между кластерами в 80-мерном пространстве бутылочного горлышка автоэнкодера. По вертикали отмечены лекарственные препараты обучающей выборки, по горизонтали – валидационные препараты.

Fig. 2. Relative proximity of EEG signal clusters in parametric space. Similarity coefficients are dimensionless, relative and are calculated as distances between clusters in the 80-dimensional bottleneck space of the autoencoder. Training sample drugs are marked vertically, validation samples are marked horizontally.

Таблица 2/Table 2

Сходство изменений биоэлектрической активности мозга (коэффициент от 0 до 1) на фоне действия соединения РУ-31 и различных психотропных средств

Similarity of changes in brain bioelectrical activity (coefficient from 0 to 1) induced by RU-31 and various psychotropic drugs

Соединение Compound	Галоперидол Haloperidol	Клозапин Clozapine	Амитриптилин Amitriptyline	Флуоксетин Fluoxetine	Кетансерин Ketanserin	Ципрофентадин Cypromertadine	Гидроксизин Hydroxyzine	Суматриптан Sumatriptan	Ондансетрон Ondansetron
РУ-31 RU-31	0,585	0,764	0,572	0,452	0,756	0,674	0,567	0,241	0,269

ного удержания (критерий Краскела-Уоллиса, $H=2,139$, $p=0,54$). Однако в фазе долговременного удержания была выявлена статистически значимая межгрупповая раз-

ница ($H=16,64$, $p=0,0008$). У животных с моделью психоза наблюдалось статистически значимое снижение КД по сравнению с ложнооперированной группой ($Me=0,29$,

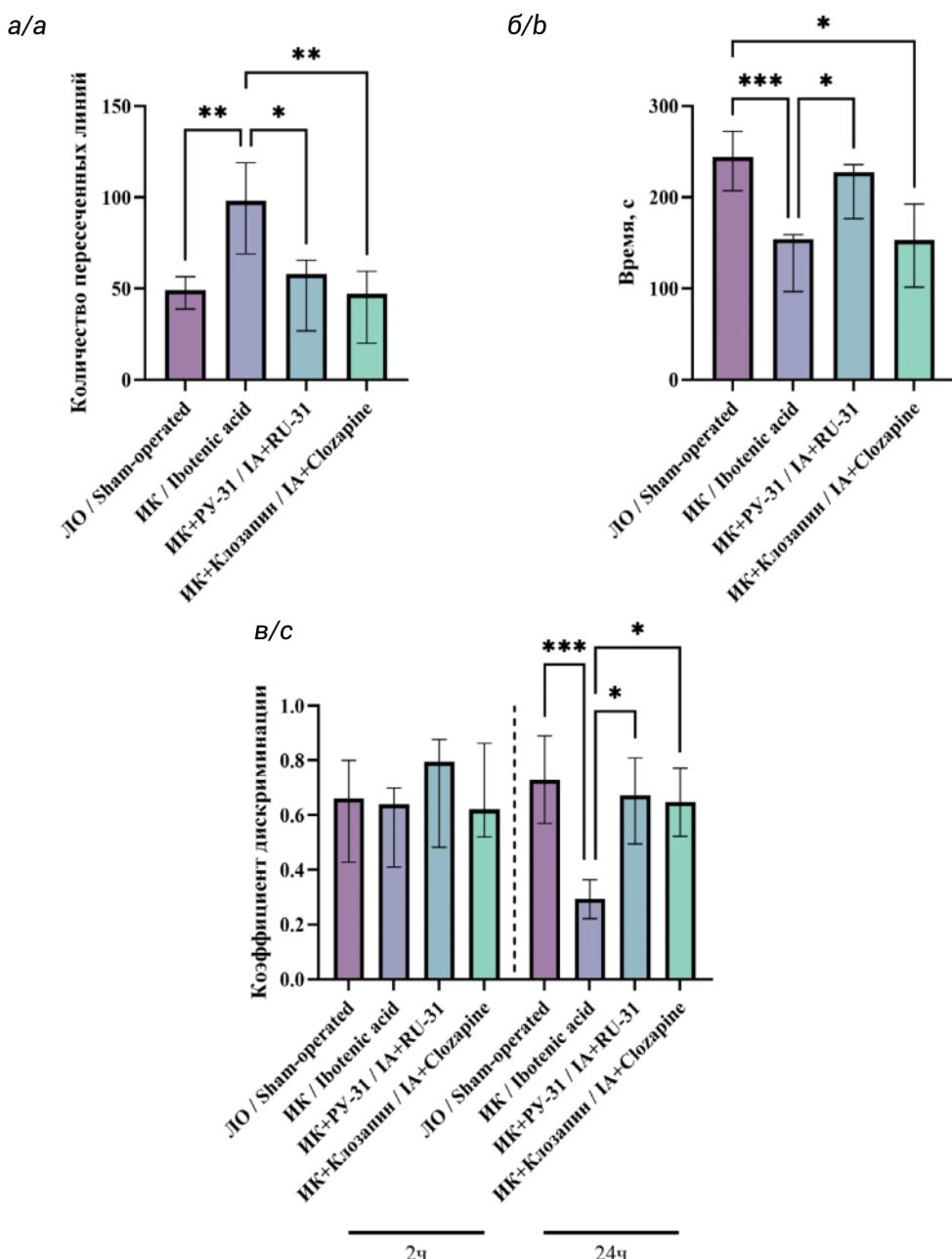


Рис. 3. Влияние соединения РУ-31 (10 мг/кг, в/б) и клозапина (7,5 мг/кг, в/б) на локомоторную активность (а), социальное взаимодействие (б) и память (в) крыс на модели неонатального разрушения вентрального гиппокампа.

Fig. 3. Effect of the compound RU-31 (10 mg/kg, i.p.) and clozapine (7,5 mg/kg, i.p.) on locomotor activity (a), social interaction (b), and memory (c) in rats in the neonatal ventral hippocampal lesion model.

IQR=0,14; $p<0,001$) (рис. 3, в/с). В свою очередь, РУ-31 и клозапин в фазе долговременного удержания значимо увеличивали КД у животных по сравнению с животными, не получавшими лечения (Ме=0,73, IQR=0,34 для РУ-31; Ме=0,68, IQR=0,32 для клозапина; $p<0,05$) (рис. 3, в/с).

Полученные данные свидетельствуют, что повреждение вентрального гиппокампа иботеновой кислотой избирательно нарушает процессы удержания информации при длительной (24 ч) задержке, не затрагивая их при короткой (2 ч) задержке. РУ-31 и клозапин

продемонстрировали способность корректировать эти нарушения, улучшая показатели долговременного удержания информации у животных с моделированным психозом.

Обсуждение

В ходе проведенного исследования была изучена антипсихотическая активность нового производного бензимидазола РУ-31 с 5-HT_{2A} антагонистической активностью с использованием комплексного подхода, включающего анализ изменений биоэлектрической активности мозга и поведенческое тестирование на модели психотического расстройства, вызванного неонатальной деструкцией вентрального гиппокампа.

Анализ изменений биоэлектрической активности мозга с использованием алгоритма UMAP позволил успешно разделить данные на отдельные кластеры, соответствующие различным психотропным веществам. Пространственное расположение кластеров относительно друг друга может служить индикатором сходства или различия физиологических и психотропных эффектов, оказываемых различными веществами. Близкое расположение кластеров на графике (рис. 1) указывает на наличие общих фармакологических эффектов и механизмов воздействия соответствующих веществ на центральную нервную систему, в то время как изолированное положение кластера свидетельствует об уникальности или значительном отличии эффектов данного вещества на головной мозг по сравнению с другими исследуемыми соединениями. Анализ внутренней структуры кластеров, а именно равномерность распределения и плотность точек внутри каждого из них, позволяет оценить стабильность и воспроизводимость воздействия каждого вещества на ЭЭГ показатели. Большая плотность и равномерность распределения точек внутри кластера указывают на устойчивость и повторяемость реакций головного мозга на введение данного вещества, в то время как рассредоточенность точек свидетельствует о значительной вариабельности ответов между различными субъектами или экспериментальными сессиями.

Сравнительный анализ показал высокую степень сходства эффектов РУ-31 с клозапином, а также с кетансерином [12] и ципрогептадином [13], известными антагонистами 5-HT_{2A} рецепторов. Этот результат указывает на ключевую роль серотонинергической системы в механизме действия РУ-31. Примечательно, что сходство с клозапином, обладающим полимодальным механизмом действия [14], может говорить о более сложном фармакологическом профиле РУ-31. Нельзя исключать возможность взаимодействия соединения РУ-31 с дополнительными фармакологическими мишенями, участвующими в патогенезе психоза.

В поведенческих экспериментах на модели психоза, вызванного неонатальным разрушением вентрального гиппокампа, РУ-31 продемонстрировал выраженную антипсихотическую активность. В тесте «Открытое поле» соединение РУ-31 значительно снижало гиперлокомоцию у животных с психозом на уровне, сопоставимом с клозапином. Гиперлокомоция у грызунов рассматривается как аналог позитивной симптоматики психоза у человека, поэтому нормализация локомоторной активности под действием РУ-31 указывает на его способность купировать психотические проявления [15, 16].

Важным аспектом антипсихотической активности является влияние на негативную симптоматику, которая часто резистентна к терапии традиционными нейролептиками [17]. В тесте на социальное взаимодействие РУ-31 продемонстрировал способность улучшать социальное поведение у животных с моделированным психозом. Этот результат является особенно важным, поскольку нарушения социального взаимодействия представляют собой одну из ключевых характеристик негативной симптоматики. Примечательно, что клозапин в данном исследовании не оказывал статистически значимого влияния на социальное взаимодействие, что согласуется с ранее полученными данными [18, 19] и может свидетельствовать о преимуществах РУ-31 в коррекции негативных симптомов. Однако, необходимы дальнейшие исследования с использованием более широкого спектра поведенческих тестов для подтверждения этого предположения.

В тесте распознавания нового объекта было показано, что неонатальное разрушение вентрального гиппокампа приводит к нарушениям долговременного удержания информации [20]. Этот результат подтверждает важную роль вентрального гиппокампа в процессах консолидации памяти. Как соединение РУ-31, так и клозапин эффективно восстанавливали показатели памяти в фазе долговременного удержания у животных с моделированным психозом. Аналогичный эффект был показан для рисперидона в ранее проведенных исследованиях [21]. Улучшение когнитивных функций под действием антипсихотических препаратов является важным клиническим аспектом, поскольку когнитивные нарушения значительно снижают качество жизни пациентов с шизофренией. Таким образом, способность РУ-31 корректировать когнитивный дефицит является дополнительным аргументом в пользу его потенциальной эффективности в лечении психотических расстройств.

Заключение

Использование комплексного подхода, включавшего анализ изменений биоэлектрической активности мозга и поведенческое тестирование у крыс с психотическим расстройством, вызванным неонатальной деструк-

цией вентрального гиппокампа, позволило подтвердить антипсихотический потенциал производного бензимидазола РУ-31 с антагонистической активностью в отношении 5-HT_{2A}-рецепторов. Соединение РУ-31 проявило сходство с антагонистами 5-HT_{2A}-рецепторов клозапином и кетансерином, что свидетельствует о значительной роли серотонинергической системы в его действии. Поведенческие тесты продемонстрировали высокую эффективность соединения РУ-31 в коррекции как позитивных, так и негативных симптомов, а также когнитивных нарушений, характерных для шизофрении, что указывает на его перспективность в качестве средства для лечения психотических расстройств, в том числе резистентных к традиционной терапии.

Литература

(п.п. 1-6; 11-21 см. References)

7. Калитин К.Ю., Невзоров А.А., Спасов А.А., Муха О.Ю. Распознавание эффектов и механизма действия препаратов на основе анализа внутрчерепной ЭЭГ с помощью методов глубокого обучения. *Компьютерные исследования и моделирование*. 2024; 16(3): 755-72. <https://doi.org/10.20537/2076-7633-2024-16-3-755-772>
8. Агацарская Я.В., Яковлев Д.С., Мальцев Д.С., Семенова Ю.В., Салихов Д.А., Султанова К.Т. и др. Нейрорецепторные эффекты антимигренозного агента 9-диэтиламиноэтил-2-(4-метоксифенил) имидазол[1,2-а] бензимидазола. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2019; 16(1): 120-24. [https://doi.org/10.19163/1994-9480-2019-1\(69\)-120-124](https://doi.org/10.19163/1994-9480-2019-1(69)-120-124)
9. Калитин К.Ю., Спасов А.А., Муха О.Ю. Дизонтогенетические и травматические модели шизофрении на грызунах. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2024; 20(4): 28-36. <https://doi.org/10.19163/1994-9480-2023-20-4-28-36>
10. Гуськова Т.А. Доклиническое токсикологическое изучение лекарственных средств как гарантия безопасности проведения их клинических исследований. *Токсикологический вестник*. 2010; 5: 2-5.
6. Sysoev Y.I., Okovityi S.V. Prospects of Electrocorticography in Neuropharmacological Studies in Small Laboratory Animals. *Brain Sci.* 2024; 14(8): 772. <https://doi.org/10.3390/brainsci14080772>
7. Kalitin K.Y., Nevzorov A.A., Spasov A.A., Mukha O.Y. Deep learning analysis of intracranial EEG for recognizing drug effects and mechanisms of action. *Komp'yuternye issledovaniya i modelirovaniye*. 2024; 16(3): 755-72. <https://doi.org/10.20537/2076-7633-2024-16-3-755-772> (In Russian)
8. Agatsarskaya Ya.V., Yakovlev D.S., Maltsev D.S., Semenova Y.V., Salikhov D.A., Sultanova K.T. Neuroreceptorological effects of antimigraine agent 9-diethyl-2-(4-methoxyphenyl)imidazo[1,2-a] benzimidazol. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. 2019; 16(1): 120-24. [https://doi.org/10.19163/1994-9480-2019-1\(69\)-120-124](https://doi.org/10.19163/1994-9480-2019-1(69)-120-124) (In Russian)
9. Kalitin K.Y., Spasov A.A., Mukha O.Y. Developmental and lesion models of schizophrenia in rodents. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. 2024; 20(4): 28-36. <https://doi.org/10.19163/1994-9480-2023-20-4-28-36> (In Russian)
10. Guskova T.A. Preclinical toxicological study of drugs as a guarantee of their safe clinical investigations, *Toksikologicheskii vestnik*. 2010; 5: 2-5. (In Russian)
11. McInnes L., Healy J., Melville J. UMAP: Uniform Manifold Approximation and Projection. *Journal of Open Source Software*. 2018; 3(29): 861. <https://doi.org/10.21105/joss.00861>
12. Holze F., Madsen M.K., Svarer C., Gillings N., Stenbaek D.S., Rudin D. Ketanserin exhibits dose- and concentration-proportional serotonin 2A receptor occupancy in healthy individuals: Relevance for psychedelic research. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2024; 88: 43-8. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2024.07.003>
13. Jacobs E.T., Akers K.G., Vohra V., King A.M. Cyproheptadine for Serotonin Toxicity: an Updated Systematic Review and Grading of Evidence. *Curr Emerg Hosp Med Rep*. 2020; 8: 151-59. <https://doi.org/10.1007/s40138-020-00222-5>
14. de Bartolomeis A., Vellucci L., Barone A., Manchia M., De Luca V., Iassevoli F. Clozapine's multiple cellular mechanisms: What do we know after more than fifty years? A systematic review and critical assessment of translational mechanisms relevant for innovative strategies in treatment-resistant schizophrenia. *Pharmacol Ther*. 2022; 236: 108236. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2022.108236>
15. Ouhaz Z., Ba-M'hamed S., Bennis M. Haloperidol treatment at pre-exposure phase reduces the disturbance of latent inhibition in rats with neonatal ventral hippocampus lesions. *C R Biol*. 2014; 337(10): 561-70. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2014.07.005>
16. Feifel D., Shilling P.D. *Modeling Schizophrenia in Animals*. In *Animal Models for the Study of Human Disease*. 2nd. [s.l.] Ed by Conn P.M. Elsevier; 2017. 587-617 pp. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809468-6.00023-1>
17. Căpățină O.O., Micluța I.V., Fadgyas-Stănculete M. Current perspectives in treating negative symptoms of schizophrenia: A narrative review (Review). *Exp Ther Med*. 2021; 21(3): 276. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.9707>
18. Becker A., Grecksch G. Haloperidol and clozapine affect social behaviour in rats postnatally lesioned in the ventral hippocampus. *Pharmacol Biochem Behav*. 2003; 76(1): 1-8. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(03\)00139-4](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(03)00139-4)
19. Rueter L.E., Ballard M.E., Gallagher K.B., Basso A.M., Curzon P., Kohlhaas K.L. Chronic low dose risperidone and clozapine alleviate positive but not negative symptoms in the rat neonatal ventral hippocampal lesion model of schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*. 2004; 176(3-4): 312-19. <https://doi.org/10.1007/s00213-004-1897-4>

References

1. McCutcheon R.A., Reis Marques T., Howes O.D. Schizophrenia-An Overview. *JAMA Psychiatry*. 2020; 77(2): 201-10. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2019.3360>
2. Mosolov S.N., Yaltonskaya P.A. Primary and Secondary Negative Symptoms in Schizophrenia. *Front Psychiatry*. 2022; 12: 766692. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2021.766692>
3. Correll C.U., Schoeler N.R. Negative Symptoms in Schizophrenia: A Review and Clinical Guide for Recognition, Assessment, and Treatment. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2020; 16: 519-34. <https://doi.org/10.2147/ndt.s225643>
4. Quednow B.B., Geyer M.A., Halberstadt A.L. Serotonin and schizophrenia. In Müller C.P., Jacobs B.L. (Eds.). *Handbook of the behavioral and neurobiology of serotonin*. Elsevier Academic Press. 2010; 585-620. [https://doi.org/10.1016/S1569-7339\(10\)70102-8](https://doi.org/10.1016/S1569-7339(10)70102-8)
5. Kantrowitz J.T. Targeting Serotonin 5-HT_{2A} Receptors to Better Treat Schizophrenia: Rationale and Current Approaches. *CNS Drugs*. 2020; 34(9): 947-59. <https://doi.org/10.1007/s40263-020-00752-2>

20. Apam-Castillejos D.J., Tendilla-Beltrán H., Vázquez-Roque R.A., Vázquez-Hernández A.J., Fuentes-Medel E., García-Dolores F., et al. Second-generation antipsychotic olanzapine attenuates behavioral and prefrontal cortex synaptic plasticity deficits in a neurodevelopmental schizophrenia-related rat model. *J Chem Neuroanat.* 2022; 125: 102166. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2022.102166>
21. Tendilla-Beltrán H., Garcés-Ramírez L., Martínez-Vásquez E., Nakakawa A., Gómez-Villalobos M.J., Flores G. Differential Effects of Neonatal Ventral Hippocampus Lesion on Behavior and Corticolimbic Plasticity in Wistar-Kyoto and Spontaneously Hypertensive Rats. *Neurochem Res.* 2024; 49(4): 959-79. <https://doi.org/10.1007/s11064-023-04074-9>

Сведения об авторах:

Калитин Константин Юрьевич, канд. мед. наук, доцент каф. фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России; ст. науч. сотр. лаб. метаботропных лекарственных средств НЦИЛС ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России; ст. науч. сотр. лаб. «Синаптическая биология» (Приоритет-2030) ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет»;

Муха Ольга Юрьевна, ассистент каф. фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России; мл. науч. сотр. лаб. метаботропных лекарственных средств НЦИЛС ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России;

Войнов Виктор Борисович, доктор биол. наук, глав. науч. сотр. лаб. «Синаптическая биология» (Приоритет-2030) ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет».

Клименко А.В.¹, Шатохина С.Н.², Шабалин В.Н.², Александрин В.В.², Перцов С.С.¹

Сывороточные маркёры общего состояния организма крыс с болевым синдромом челюстно-лицевой области

¹ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», 125315, Москва, Россия, Балтийская, д. 8;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, Россия, Балтийская, д. 8

Актуальность. Распознавание боли и стресса представляет значительные сложности в связи с отсутствием высокоинформативных, объективных критериев оценки состояния организма животных в экспериментальной алгологии. Острая боль – это сигнал наличия повреждения, опасности, который выполняет защитную функцию. Однако хроническая боль, возникающая в условиях патологии, сопровождается структурно-функциональными повреждениями на молекулярном уровне. При болевых синдромах наблюдаются изменения уровня гормонов, нарушения физиологических функций (иммунных и других), требующие больших энергозатрат, замедление воспалительных реакций. Для объективизации интегративной оценки состояния организма млекопитающих при развитии болевого синдрома мы использовали методику выявления структурных маркёров сыворотки крови по технологии «Литос-система». **Цель:** выявление особенностей сывороточных маркёров общего состояния организма у крыс с болевым синдромом челюстно-лицевой области.

Методика. Исследование проведено на 32 самках крыс Wistar (масса тела $252,0 \pm 18,0$ г). Сформировано 4 экспериментальные группы: М1 и М2 – особи, получившие инъекцию монойодацетата натрия (16 мг/кг) в объёме 0,04 мл в височно-нижнечелюстной сустав; Ф1 и Ф2 – животные с внутрисуставным введением физиологического раствора в объёме 0,04 мл. У крыс групп М1 и Ф1 кровь для исследования брали на 14-е сутки, а у групп М2 и Ф2 – на 28-е сутки после введения реагентов. Исследование сыворотки крови производили методом клиновидной дегидратации технологии «Литос-система».

Результаты. Крысы с экспериментальным болевым синдромом характеризуются смещением степени выраженности системных показателей структурной организации фаций сыворотки крови – «гармония» и «энергетика» – к умеренным и низким значениям по сравнению с контролем. Указанные изменения наиболее выражены на относительно ранних сроках наблюдений, а именно через 2 недели после введения монойодацетата натрия в височно-нижнечелюстной сустав. У животных с индуцированным болевым синдромом высокая выраженность маркёра «стресс» наблюдается в поздние сроки исследования – через 4 недели после внутрисуставной инъекции монойодацетата натрия. Число крыс с наличием маркёра «фиброз» в фациях сыворотки крови через 2 недели после введения монойодацетата натрия в височно-нижнечелюстной сустав больше, чем по окончании 4-й недели наблюдений. Данные особенности могут быть связаны с активацией иммунной системы в относительно позднем периоде после индукции болевого синдрома, что снижает интенсивность склерозирования тканей.

Заключение. Методика анализа системной самоорганизации неклеточных биологических жидкостей – технология «Литос-система» – является одним из перспективных подходов к объективной оценке общего состояния организма при болевых синдромах.

Ключевые слова: крысы; экспериментальный болевой синдром; монойодацетат натрия; технология «Литос-система»; биомолекулярные пленки (фации)

Для цитирования: Клименко А.В., Шатохина С.Н., Шабалин В.Н., Александрин В.В., Перцов С.С. Сывороточные маркёры общего состояния организма крыс с болевым синдромом челюстно-лицевой области. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2025; 69(3): 74–83.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.74-83

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Клименко А.В., Шабалин В.Н., Перцов С.С.; сбор и обработка материала – Клименко А.В., Шатохина С.Н., Шабалин В.Н., Александрин В.В.; подготовка иллюстративного материала – Шатохина С.Н., Шабалин В.Н., Александрин В.В.; статистическая обработка материала – Клименко А.В., Перцов С.С.; написание текста – Клименко А.В., Перцов С.С.; редактирование – Шабалин В.Н., Перцов С.С. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Клименко Алексей Владимирович, e-mail: klimenko_av@academpharm.ru

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Минобрнауки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 31.03.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Klimenko A.V.¹, Shatokhina S.N.², Shabalin V.N.², Aleksandrin V.V.², Pertsov S.S.¹

Serum markers of general body condition of rats with maxillofacial pain syndrome

¹Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, 8 Baltijskaya St., Moscow, 125315, Russian Federation;

²Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8 Baltijskaya, St., Moscow, 125315, Russian Federation

Relevance. Recognition of pain and stress presents significant difficulties due to the lack of highly informative, objective criteria for assessing the state of the animal body in experimental algology. Acute pain is a signal of the presence of damage and danger, that performs a protective function. However, chronic pain emerging in pathological conditions is accompanied by structural and functional damage at the molecular level. In pain syndromes, there are changes in hormone levels, disorders of physiological functions (immune and others) that require high energy expenditure, and deceleration of inflammatory reactions. To objectivize the integrative assessment of the mammalian body condition during the development of pain syndrome, we used the detection of serum structural markers with the Lithos System technology.

Aim. Revealing specific features of serum markers for general body condition in rats with maxillofacial pain syndrome.

Methods. The study was conducted on 32 female Wistar rats (body weight 252.0 ± 18.0 g). Four experimental groups were formed: M1 and M2, rats injected with sodium monoiodoacetate (16 mg/kg) 0.04 ml into the temporomandibular joint; S1 and S2, rats that received an intra-articular injection of saline 0.04 ml. In rats of groups M1 and S1, blood for the study was collected on day 14, and in groups M2 and S2, on day 28 after the injection. Blood serum was studied by cuneiform dehydration using the Lithos System technology.

Results. Rats with experimental pain syndrome were characterized by a shift in the expression degree of the systemic indicators for the structural organization of serum facies, "harmony" and "energetics", towards moderate and low values compared with the control. Those changes are most pronounced at relatively early stages of observation, namely, two weeks after the sodium monoiodoacetate injection into the temporomandibular joint. In animals with induced pain syndrome, high expression of the "stress" marker was observed at late terms of the study, at 4 weeks after intra-articular injection of sodium monoiodoacetate. The number of rats with the presence of the "fibrosis" marker in serum facies two weeks after the sodium monoiodoacetate injection into the temporomandibular joint was greater than at the end of the 4th week of observation. These features may be related with the immune activation during a relatively late period after the induction of pain syndrome, which reduces the intensity of tissue sclerosing.

Conclusion. The method for analyzing the systemic self-organization of non-cellular biological fluids, the "Lithos System" technology, is one of promising approaches to the unbiased assessment of the general state of the body in pain syndromes.

Keywords: rats; experimental pain syndrome; sodium monoiodoacetate; Lithos System technology, biomolecular films (facies)

For citation: Klimenko A.V., Shatokhina S.N., Shabalin V.N., Aleksandrin V.V., Pertsov S.S. Serum markers of general body condition of rats with maxillofacial pain syndrome. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(3): 74-83. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.74-83

Author's contribution: concept and design of the study – Klimenko A.V., Shabalin V.N., Pertsov S.S.; collection and processing of material – Klimenko A.V., Shatokhina S.N., Shabalin V.N., Aleksandrin V.V.; preparation of illustrative material – Shatokhina S.N., Shabalin V.N., Aleksandrin V.V.; statistical processing – Klimenko A.V., Pertsov S.S.; writing the text – Klimenko A.V., Pertsov S.S.; editing the text – Shabalin V.N., Pertsov S.S. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: Aleksei V. Klimenko, Senior researcher of the laboratory of systemic mechanisms of emotional stress and pain of «Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies», e-mail: klimenko_av@academpharm.ru

Information about the authors:

Klimenko A.V., <https://orcid.org/0000-0002-0488-7871>

Shatokhina S.N., <https://orcid.org/0000-0001-9441-4383>

Shabalin V.N., <https://orcid.org/0000-0002-1861-759X>

Aleksandrin V.V., <https://orcid.org/0000-0003-4625-6522>

Pertsov S.S., <https://orcid.org/0000-0001-5530-4990>

Financing. The work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation.

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

Received 31.03.2025

Accepted 25.08.2025

Published 30.09.2025

Введение

Изучение боли и связанных с ней состояний является актуальным направлением как медико-биологической науки, так и клинической практики. Так как боль во многом представляет собой субъективное ощущение, исследования болевых синдромов сопряжены с определенными сложностями [1]. Это относится, в частности, к сопоставлению результатов психоdiagностических методик между собой, а также с объективными изменениями на уровне организма в целом.

В клинических исследованиях при оценке выраженности болевого синдрома широко используются валидированные методы, такие как визуальная аналоговая шкала, числовая рейтинговая шкала, опросник боли Макгилла, 4-х балльная вербальная рейтинговая шкала [2, 3]. Для диагностики центральной сенситизаций, как важного звена в патогенезе хронической боли, часто применяется «Опросник для оценки центральной сенситизаций» [4].

Несмотря на широкий спектр методов изучения морфофункциональных изменений у млекопитающих при патологии, существуют серьезные ограничения при экстраполяции на человека результатов, полученных в фундаментальных исследованиях боли на экспериментальных животных. Во многом это связано с невозможностью однозначно утверждать о формировании боли у животных при изменении показателей в соответствующих тестах. В экспериментальной алгологии распознавание боли и стресса представляет значительные сложности в связи с отсутствием высоконформативных, объективных критериев оценки состояния организма животных [5]. Известно, что острая боль – это сигнал наличия повреждения, опасности, который выполняет защитную функцию. Однако хроническая боль, возникающая в условиях патологии, сопровождается структурно-функциональными повреждениями на молекулярном уровне. При болевых синдромах наблюдаются изменения уровня гормонов, нарушения физиологических функций (иммунных и других), требующих больших энергозатрат, замедление воспалительных реакций [6].

Оценка выраженности ноцицептивной чувствительности у животных основана на анализе изменений порога болевой реакции. В лабораторных условиях хорошо зарекомендовали себя такие методики, как «горячая пластина» [7-9], тест отдергивания хвоста [7-10], тест Фон Фрея [8]. Ещё одним информативным показателем в ал-

гогии является поведение млекопитающих [8, 9, 11]. Развитие тревожных [9, 10] и депрессивноподобных состояний, снижение двигательной активности [9], постуральные нарушения [12], угнетение пищевого поведения во многом отражают общее состояние организма и указывают на возможное формирование патологии.

В исследованиях боли также применяются разнообразные методики регистрации вегетативных [13, 14] и нейрофизиологических [15] показателей у млекопитающих. Кроме того, анализ маркёров воспаления и повреждения тканей [16] вносит существенный вклад в понимание механизмов, лежащих в основе развития болевых синдромов. Нужно отметить, что при оценке различных физиологических параметров жизнедеятельности животных и человека применяются методы математического анализа [14].

С целью объективизации интегративной оценки состояния организма млекопитающих в разных условиях жизнедеятельности актуальной является разработка и применение новых подходов [17]. В этом аспекте перспективным может быть использование диагностической технологии «Литос-система», основанной на изучении функциональных морфологических характеристик неклеточных тканей [18].

Ранее, на экспериментальной модели болевого синдрома в челюстно-лицевой области у самок крыс, нами были выявлены особенности изменений ноцицептивной чувствительности, уровня тревожности, а также пищевого и питьевого поведения [10-12, 19]. В связи с вышесказанным, интерес представляет поиск возможных взаимосвязей между обнаруженными особенностями и морфофункциональными характеристиками фаций сыворотки крови в данных условиях. Цель работы – выявление особенностей сывороточных маркёров общего состояния организма у крыс с болевым синдромом челюстно-лицевой области.

Методика

Исследование выполнено на 32 половозрелых самках Вистар (масса тела $252,0 \pm 18,0$ г). Эксперименты одобрены Комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (протокол №3 от 21 февраля 2024 г.). Опыты выполнены в соответствии с требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных. По прошествии 14 дней (период адаптации)

после доставки из питомника «Столбовая», животных содержали в стандартных условиях вивария.

Болевую дисфункцию височно-нижнечелюстного сустава вызывали внутрисуставной инъекцией моногидратата натрия (МИА, 16 мг/кг) в объёме 0,04 мл [20]. Сформированы 4 экспериментальные группы: Ф1 ($n=6$) и Ф2 ($n=6$) – животные с внутрисуставным введением физиологического раствора в объёме 0,04 мл; М1 ($n=12$) и М2 ($n=8$) – особи, получавшие МИА. Кровь для исследования у крыс получали без соблюдения условий 8-часового прекращения приёма до начала эксперимента пищи на 14-е (группы М1 и Ф1) и 28-е сутки (группы М2 и Ф2) после внутрисуставного введения реагентов.

Пробы периферической крови (0,5 мл) получали из хвостовой вены и собирали в сухую пробирку без стабилизатора. Сгусток крови после свёртывания отделяли стеклянной палочкой, пробирку центрифугировали при 3000 об/мин в течение 5 мин. Для анализа брали надосадочную сыворотку крови. Исследования проводили по технологии «Литос-система» методом системной самоорганизации биологических жидкостей [18, 19]. Биомолекулярные плёнки (фации) получали в результате дегидратации капель сыворотки крови на тест-картах диагностического набора «Литос-система» в специальном шкафу при относительной влажности 55–60%, температуре 30°C и ламинарном потоке воздуха. Фации изучали путём микроскопии в проходящем свете и в тёмном поле ($\times 12 - \times 100$; стереомикроскоп MZ12, «Leica»). Оценивали интенсивность проявления следующих маркёровых показателей структурной организации фаций сыворотки крови крыс: гармонии молекулярных взаимоотношений (гармония), энергетики молекул (энергетика), воспаления, стресса, фиброза [18]. В связи с несоблюдением условий пищевой депривации в течение 8 ч до забора крови, маркёр хронической интоксикации в настоящей работе мы были вынуждены трактовать как маркёр наличия метаболитов.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием программного обеспечения STATISTICA 10 и Microsoft Excel. Межгрупповые различия оценивали с помощью точного теста Фишера. Уровень статистической значимости отличий составлял $p<0,05$.

Результаты

В работе дана сравнительная оценка частоты проявления и степени выраженности маркёровых показателей структурной организации фаций сыворотки крови 4-х вышеуказанных групп экспериментальных животных. Параметры изучаемых показателей представлены в **таблице 1**, матрица межгруппового сравнения – в **таблице 2**.

Маркёр гармонии межмолекулярных взаимоотношений (рис. 1) был отчётливо выражен у животных групп Ф1

и Ф2 (табл. 1). В группе М1 высокая степень гармонизации отмечена лишь у 50% крыс, а умеренная и низкая – у 25% особей. В то же время, в группе М2 высокая степень гармонизации выявлена у 62,5% животных, а умеренная и низкая – у 25,5 и 12,5% особей соответственно. Статистически значимое межгрупповое различие изучаемого параметра обнаружено между группами М1 и Ф1 ($p=0,05$, табл. 2).

Маркёр энергетики (рис. 1) у 2/3 животных из групп Ф1 и Ф2 проявлялся на высоком уровне (табл. 1). Высокая степень выраженности этого маркёра у особей из группы М2 (62,5%) приближалась к уровню контрольных групп Ф1 и Ф2, в то время как в группе М1 наблюдалась только у одной крысы (8,3%). Статистически значимое различие показателя «энергетика» выявлено между животными групп М1 и М2 ($p=0,04$, табл. 2).

Маркёр воспаления (рис. 2, а/а) с высокой степенью выраженности выявлен в фациях сыворотки крови половины крыс из группы Ф1, чего не обнаружено в группе Ф2 (табл. 1). Следует отметить, что высокая степень выраженности данного показателя чаще всего встречалась у особей из группы М2 (62,5%). Статистически значимое различие параметра «воспаления» обнаружено между животными из групп М2 и Ф2 ($p=0,025$, табл. 2).

Маркёр стресса (рис. 2, б/б) по частоте выявления у крыс был близок к показателю воспаления: его высокая степень наблюдалась у 2/3 животных из группы Ф1, но ни у одной особи из группы Ф2 (табл. 1). Для указанных контрольных групп обнаружено статистически значимое различие показателя «стресс» ($p=0,03$, табл. 2). Необходимо подчеркнуть, что высокая степень этого показателя выявлена у 25% и 50% особей из групп М1 и М2 соответственно.

Маркёр фиброза не выявлялся ни в одной фации сыворотки крови контрольных животных (Ф1, Ф2), но определялся у крыс из групп М1 и М2 (табл. 1, рис. 3). При этом раннее проявление этого признака (группа М1) наблюдалось у 5 из 12 животных (2 крысы с высокой степенью, 1 крыса с умеренной степенью, 2 крысы с низкой степенью). Позднее проявление маркера фиброза (группа М2) обнаружено у 2 из 8 крыс (по одной особи с умеренной и низкой степенью).

Маркер метаболитов (раздвоенная фация, рис. 4) высокой степени выраженности встречался в фациях сыворотки крови у 50% крыс из группы Ф2, но лишь у 16,7% особей из группы Ф1 (табл. 1). Высокая степень данного признака также была характерна для 1/3 животных из группы М1, но не отмечена ни у одной крысы из группы М2. В ходе межгруппового анализа установлено, что показатель маркёра метаболитов в сыворотке

Таблица 1/Table 1

Частота выявления (%) и степень выраженности маркёров показателей структурной организации фаций сыворотки крови у крыс

Frequency of detection (%) and degree of expression of marker indices of structural organization of serum facies in rats

Маркёр / Marker	Группа / Group	n	Степень выраженности маркёра Marker expression level			
			Высокая / High (%)	Умеренная / Moderate (%)	Низкая / Low (%)	Маркёр отсутствует / The marker is missing (%)
Гармония / Harmony	Φ1 / S1	6	100,0	0	0	0
	Φ2 / S2	6	100,0	0	0	0
	M1 / M1	12	50,0	25,0	25,0	0
	M2 / M2	8	62,5	25,0	12,5	0
Энергетика / Energetics	Φ1 / S1	6	66,6	16,7	16,7	0
	Φ2 / S2	6	66,6	16,7	16,7	0
	M1 / M1	12	8,3	41,7	50,0	0
	M2 / M2	8	62,5	37,5	0	0
Воспаление / Inflammation	Φ1 / S1	6	50,0	16,7	33,3	0
	Φ2 / S2	6	0	16,7	33,3	50,0
	M1 / M1	12	16,7	33,3	41,7	8,3
	M2 / M2	8	62,5	25,0	12,5	0
Стресс / Stress	Φ1 / S1	6	66,6	16,7	16,7	0
	Φ2 / S2	6	0	83,3	16,7	0
	M1 / M1	12	25,0	8,3	25,0	41,7
	M2 / M2	8	50,0	25,0	25,0	0
Метаболиты / Metabolites	Φ1 / S1	6	16,7	66,6	16,7	0
	Φ2 / S2	6	50,0	16,7	33,3	0
	M1 / M1	12	33,3	33,3	16,7	16,7
	M2 / M2	8	0	0	25,0	75,0
Фиброз / Fibrosis	Φ1 / S1	6	0	0	0	100,0
	Φ2 / S2	6	0	0	0	100,0
	M1 / M1	12	16,67	8,33	16,67	58,33
	M2 / M2	8	0	12,5	12,5	75,0

Примечание. Здесь и в табл. 2: Φ1 и Φ2 – крысы с внутрисуставным введением физиологического раствора; M1 и M2 – особи, получавшие МИА.

Note. Here and in table 2: S1 and S2 – rats with intra-articular injection of saline solution; M1 and M2 – animals receiving MIA.

крови у особей из группы M2 статистически значимо отличается от такового у крыс из групп Φ2 и M1 ($p=0,009$ и $p=0,015$ соответственно, **табл. 2**).

Обсуждение

В наших предыдущих работах установлено, что болевая чувствительность крыс представленной выборки повышалась после инъекции МИА в височно-нижнечелюстной сустав. Указанные изменения были наиболее выражены ко второму эстральному циклу (4-е – 5-е сутки наблюдений) и сохранялись до окончания наблюдений

(28 суток) [10, 11]. Увеличение уровня тревожности животных после введения МИА отмечено к 14-м и особенно к 28-м суткам наблюдений [10, 12]. Дисфункция височно-нижнечелюстного сустава сопровождалась угнетением пищевого и питьевого поведения; как следствие, масса тела крыс снижалась по сравнению с исходными значениями как на 13-е, так и на 26-е сутки опытов [12]. Эти особенности свидетельствуют об ухудшении общего состояния экспериментальных животных и формировании стойкого болевого синдрома, сопровождающегося выраженным изменениями поведения.

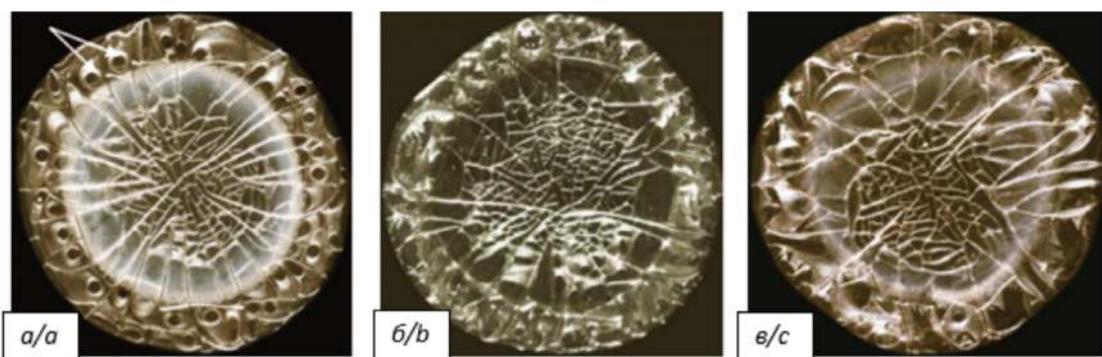


Рис. 1. Фации сыворотки крови крыс с маркёрными показателями: а – высокая степень гармонии (симметрия радиальных трещин) и энергетики (множественные круглые конкреции, стрелки); б – гармония и энергетика умеренной степени; в – гармония и энергетика низкой степени. Микроскопия в темном поле ($\times 15$).

Fig. 1. Rat blood serum facies with marker indicators: a – high degree of harmony (symmetry of radial cracks) and energetics (multiple round nodules, arrows); b – harmony and energetics of moderate degree; c – harmony and energetics of low degree. Dark-field microscopy ($\times 15$).

Таблица 2/Table 2

Уровень статистической значимости (*p*) при межгрупповом сравнении показателей структурной организации фаций сыворотки крови у крыс

The level of statistical significance (*p*) in intergroup comparison of indicators of structural organization of serum facies in rats

Показатель / Index	Группа / Group	Ф1 / S1	Ф2 / S2	М1 / M1	М2 / M2
Гармония / Harmony	Ф1 / S1	1	1	0,05	0,15
	Ф2 / S2	1	1	0,05	0,15
	М1 / M1	0,05	0,05	1	0,3
	М2 / M2	0,15	0,15	0,3	1
Энергетика / Energetics	Ф1 / S1	1	1	0,17	0,42
	Ф2 / S2	1	1	0,17	0,42
	М1 / M1	0,17	0,17	1	0,04
	М2 / M2	0,42	0,42	0,04	1
Воспаление / Inflammation	Ф1 / S1	1	0,11	0,32	0,33
	Ф2 / S2	0,11	1	0,17	0,025
	М1 / M1	0,32	0,17	1	0,13
	М2 / M2	0,33	0,025	0,13	1
Стресс / Stress	Ф1 / S1	1	0,03	0,16	0,35
	Ф2 / S2	0,03	1	0,06	0,46
	М1 / M1	0,16	0,06	1	0,07
	М2 / M2	0,35	0,46	0,07	1
Метаболиты / Metabolites	Ф1 / S1	1	0,41	0,34	0,009
	Ф2 / S2	0,41	1	0,4	0,009
	М1 / M1	0,34	0,4	1	0,015
	М2 / M2	0,009	0,009	0,015	1
Фиброз / Fibrosis	Ф1 / S1	1	1	0,24	0,14
	Ф2 / S2	1	1	0,09	0,31
	М1 / M1	0,24	0,09	1	0,29
	М2 / M2	0,14	0,31	0,29	1

Примечание. Жирным шрифтом выделены отличия при уровне значимости $p < 0,05$.

Note. Differences at a significance level of $p < 0,05$ are shown in bold.

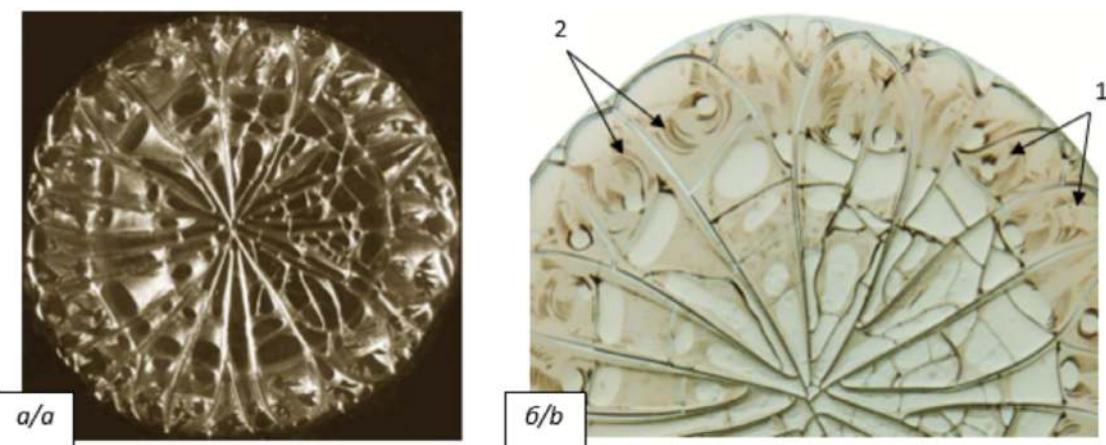


Рис. 2. (а) Фация сыворотки крови крысы с высокой степенью активности маркёров воспаления и стрессовой реакцией (микроскопия в темном поле, $\times 15$). (б) Фрагмент фации сыворотки крови крысы (микроскопия в обычном свете, $\times 60$): маркёр воспаления в виде множественных языковых структур белого цвета (стрелки 1), маркёр стресса в виде множественных вихревых колец, окружающих языковые структуры (стрелки 2).

Fig. 2. (a) Rat blood serum facies with a high degree of inflammatory marker activity and stress response (dark-field microscopy, $\times 15$). (b) Fragment of rat blood serum facies (normal light microscopy, $\times 60$): inflammation marker in the form of multiple white lingual structures (arrows 1), stress marker in the form of multiple vortex rings surrounding the lingual structures (arrows 2).

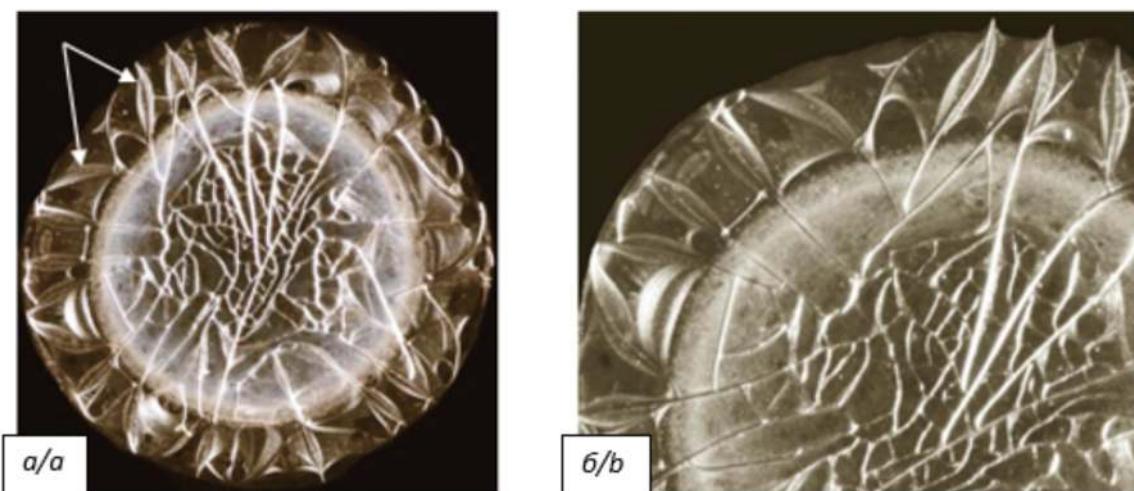


Рис. 3. Фация сыворотки крови крысы с маркером системного фиброза (стрелки): а – общий вид (микроскопия в темном поле, $\times 15$); б – фрагмент фации сыворотки крови (структуры типа «лист», микроскопия в темном поле $\times 60$).

Fig. 3. Rat blood serum facies with systemic fibrosis marker (arrows): a – general view (dark-field microscopy, $\times 15$); b – fragment of serum facies (leaf-type structures, dark-field microscopy $\times 60$).

При изучении системных маркёров структурной организации фаций сыворотки крови выявлено, что крысы с болевым синдромом в челюстно-лицевой области характеризуются смещением степени выраженности маркёров «гармония» и «энергетика» к умеренным и низким значениям, особенно на ранних сроках развития болевого синдрома (по сравнению с группами контроля). Низкие значения показателя «гармония» в фациях – базового маркёра функци-

циональной деятельности организма [19] – отражают возможные изменения протеостаза, вызванные дисфункцией органов и систем у млекопитающих. Большая доля крыс с высокой степенью гармонизации в группе М2 по сравнению с М1 объясняется более длительным периодом адаптации к болевому синдрому (14 и 28 дней соответственно).

Анализ числа и степени завершённости конкреций в сыворотке крови (уровня энергетики молекулярного пула



Рис. 4. Фации сыворотки крови крыс. Степень выраженности показателя метаболитов (раздвоенная фация): а – высокая; б – умеренная; в – низкая (микроскопия в обычном свете, $\times 15$).

Fig. 4. Facies of rat blood serum. Degree of expression of metabolites index (bifurcated facies): a – high; b – moderate; c – low (microscopy in normal light, $\times 15$).

молекул) [18] показал, что половина крыс с болевым синдромом на 14-е сутки наблюдений демонстрирует низкую выраженность параметра «энергетика». Различия выраженной данного маркёра у животных с инъекцией МИА от таковой у контрольных особей становятся статистически незначимыми к 28-м суткам опыта. По-видимому, выявленные особенности свидетельствуют о снижении энергетической активности белковых молекул в ранние сроки развития болевого синдрома с её адаптивным восстановлением в относительно поздний период исследования. Сопоставимая выраженность маркёра «энергетика» у крыс группы М2 с особями из контрольных групп может отражать адаптацию животных к болевому синдрому.

Присутствие маркёра «воспаление» высокой степени выраженности в фациях сыворотки крови крыс из групп Ф1 (в отличие от группы Ф2) можно объяснить быстрой, но относительно кратковременной иммунной реакцией на механическое повреждение околосуставных тканей при инъекции. В то же время, полученные нами данные позволяют предположить, что при введении животным МИА реакция иммунной системы отсрочена и прогрессивно развивается к 28-м суткам наблюдений в связи с нарастающей болью. Важно отметить, что в ходе статистической обработки данных значимых отличий выраженности параметра «воспаление», отражающего реакцию антиген-антитело [18], у крыс с болевым синдромом от выраженности такого параметра у особей из групп контроля в ранние сроки наблюдений не обнаружено.

Таким образом, результаты анализа указанных выше маркёров в фациях сыворотки крови крыс согласуются со сведениями о системном характере изменений при хронических болевых синдромах у млекопитающих [7, 8], а также дополняют данные, полученные нами ранее при изучении ноцицептивной чувствительности животных с экс-

периментальной дисфункцией височно-нижнечелюстного сустава [10, 11].

В настоящей работе показано, что частота выявления маркёра «стресс» была близка к показателю «воспаление» у аналогичных групп, т.к. эти показатели формируются в результате аналогичных изменений фолдинга молекул белка. В ранние сроки наблюдений высокая выраженность маркёра «стресс» характерна для крыс с введением физиологического раствора. С другой стороны, к окончанию исследований высокая степень выраженности данного показателя отмечена для особей, получавших МИА. Эти данные могут свидетельствовать о более выраженном развитии стресса у животных с длительным болевым синдромом. Полученные результаты согласуются с выявленными нами ранее изменениями поведения крыс с экспериментальной дисфункцией височно-нижнечелюстного сустава (ростом уровня тревожности) [10, 12].

Наличие маркёра «фиброз» в фациях сыворотки крови у крыс после введения МИА может указывать на процесс фиброзирования околосуставных тканей. Меньшее количество особей с болевым синдромом, характеризующихся присутствием данного маркёра на 28-е сутки наблюдений, возможно связано с подавлением активности иммунной системы в позднем периоде после воздействия МИА, что снижает интенсивность склерозирования тканей.

Нами установлено, что маркёр метаболитов присутствует в фациях сыворотки крови у животных из групп Ф1 и Ф2, по-видимому, в связи с сохранением свободного приема пищи на протяжении всего эксперимента. Большее число крыс с высокой выраженностью признака в группе Ф2 по сравнению с группой Ф1 может быть обусловлено постепенной репарацией околосуставных тканей после инъекции физиологического раствора. В отличие от контрольных групп, при формировании болевого синдрома у ряда

крыс выявлено отсутствие данного маркёра на 14-е и особенно на 28-е сутки опытов (3/4 особей). Указанные особенности свидетельствуют о фактическом отказе животных от пищи в связи с длительным болевым синдромом.

Данные, полученные при изучении системных маркёров структурной организации фаций сыворотки крови у крыс с экспериментальной дисфункцией височно-нижнечелюстного сустава (низкая выраженность показателей «гармония» и «энергетика» на относительно ранних сроках эксперимента, высокая степень маркёров «стресс» и «воспаление» в поздние сроки наблюдений) согласуются с результатами поведенческих тестов. Это проявляется в росте уровня тревожности [9, 11], подавлении пищевого и питьевого поведения [19], а также в снижении порогов болевой чувствительности животных [9, 10] на всех стадиях исследования после внутрисуставного введения МИА.

Необходимо подчеркнуть, что увеличение выборки экспериментальных объектов и более строгие условия организации эксперимента в последующем, позволяют получить новые данные о частоте выявления и степени выраженности системных маркёров структурной организации фаций сыворотки крови в разных условиях искусственного формирования болевого синдрома.

Выводы

У крыс с экспериментальной дисфункцией височно-нижнечелюстного сустава, сопровождающейся болевым синдромом, выявлено снижение энергетики и степени гармонизации взаимоотношений белковых молекул сыворотки крови по сравнению с контрольными животными.

Низкие показатели гармонии межмолекулярных взаимоотношений и энергетики молекул сыворотки крови крыс отмечены на относительно ранних сроках наблюдений – через 2 недели после введения МИА в височно-нижнечелюстной сустав. На поздних стадиях развития болевого синдрома выявлена высокая выраженность маркёров стресса и воспаления, но отсутствие или низкая степень содержания метаболитов в сыворотке крови.

Методика анализа системной самоорганизации неклеточных биологических жидкостей – технология «Литос-система» – является одним из перспективных подходов к выявлению объективных показателей общего состояния организма при болевых синдромах.

Литература

(п.п. 2; 3; 7; 8; 13; 16; 20 см. References)

1. Морозов А.М., Сороковикова Т.В., Пичугова А.Н., Беляк М.А. О возможности применения инструментальной и проекционной оценки болевого синдрома. *Вестник медицинского института «РЕАВИЗ». Реабилитация, Врач и Здоровье.* 2022; 12(2): 44-52. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2022.2.CLIN.2>

4. Есин О.Р., Горобец Е.А., Хайруллин И.Х., Есин Р.Г., Гамирова Р.Г., Шамсутдинова Р.Ф. и др. Опросник центральной сенситизации – русскоязычная версия. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2020; 120(6): 51-6. <https://doi.org/10.17116/jneuro202012006151>
5. Карамян А.С. Распознавание боли и стресса у лабораторных животных. *Международный научно-исследовательский журнал.* 2022; 4(118): 140-2. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.118.4.021>
6. Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н. Вокализация крыс в ультразвуковом диапазоне как модель оценки стрессового влияния бездвижения, электрокожного раздражения и физической нагрузки фармакодинамики лекарств. *Биомедицина.* 2010; (5): 17-21.
9. Черемисова Д.А., Романенко О.С., Клименко А.В., Абрамова А.Ю., Перцов С.С. Показатели тревожности и ноцицептивной чувствительности у самок крыс при дисфункции височно-нижнечелюстного сустава. *Патогенез.* 2024; 22(2): 97-100. <https://doi.org/10.25557/2310-0435.2024.02.97-100>
10. Клименко А.В., Романенко О.С., Черемисова Д.А., Перцов С.С. Особенности ноцицепции у самок крыс на модели болевого синдрома в челюстно-лицевой области. *Российский журнал боли.* 2025; 23(1): 5-9. <https://doi.org/10.17116/pain2025230115>
11. Клименко А.В., Черемисова Д.А., Романенко О.С., Перцов С.С. Особенности поведения самок крыс на модели болевого синдрома в челюстно-лицевой области. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2025; 179(2): 148-52. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2025-179-2-148-152>
12. Сорокина Н.Д., Перцов С.С., Гиоева Ю.А., Селицкий Г.В., Зангирова А.С. Взаимосвязь постуральных нарушений с дисфункцией височно-нижнечелюстного сустава и состоянием других систем организма. *Вестник новых медицинских технологий.* 2019; 26(2): 47-52. <https://doi.org/10.24411/1609-2163-2019-16353>
14. Мезенцева Л.В., Перцов С.С., Копылов Ф.Ю., Ластовецкий А.Г. Математический анализ устойчивости кардиодинамики у постинфарктных больных. *Биофизика.* 2017; 62(3): 614-7.
15. Халмухамедов Ж.А., Шарипов А.М., Шукуров Б.И. К вопросу объективной оценки острой боли. *Вестник экстренной медицины.* 2019; 12(2): 82-5.
17. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н., Александрин В.В., Клименко А.В., Перцов С.С. Технология «Литос-система» в оценке состояния организма лабораторных животных. *Патогенез.* 2024; 22(4): 32-8.
18. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. *Функциональная морфология неклеточных тканей человека.* М.: Издательство РАН, 2019.
19. Романенко О.С., Черемисова Д.А., Клименко А.В., Любимова А.Ю., Перцов С.С. Динамика двигательной активности и метаболических показателей у крыс на модели болевого синдрома в челюстно-лицевой области. *Патогенез.* 2024; 22(2): 81-3. <https://doi.org/10.25557/2310-0435.2024.02.81-83>

References

1. Morozov A.M., Sorokovikova T.V., Pichugova A.N., Belyak M.A. On the feasibility of instrumental and projective assessment of pain syndrome. *Vestnik meditsinskogo instituta «REAVIZ». Reabilitatsiya, Vrach i Zdorov'e.* 2022; 12(2): 44-52. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2022.2.CLIN.2> (in Russian)
2. Aguayo-Alves A., Gaban G.L.N.A., Noronha M.A., Selistre L.F.A. Effects of therapeutic exercise on pain processing in people with chronic non-specific neck pain – A systematic review and meta-analysis. *Musculoskelet Sci Pract.* 2024; 74: 103183. <https://doi.org/10.1016/j.msksp.2024.103183>

3. Makin J., Watson L., Pouliopoulos D.V., Laframboise T., Gangloff B., Sidhu R., et al. Effectiveness and safety of manual therapy when compared with oral pain medications in patients with neck pain: a systematic review and meta-analysis. *BMC Sports Sci Med Rehabil.* 2024; 16(1): 86. <https://doi.org/10.1186/s13102-024-00874-w>
4. Esin O.R., Gorobec E.A., Hajrullin I.H., Esin R.G., Gamirova R.G., Shamsutdinova R.F., et al. Central Sensitization Questionnaire – Russian version. *Zhurnal nevrologii i psichiatrii im. S.S. Korsakova.* 2020; 120(6): 51-6. <https://doi.org/10.17116/jnevro202012006151> (in Russian)
5. Karamyan A.S. Recognition of pain and stress in laboratory animals. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal.* 2022; №4 (118): 140-2. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.118.4.021> (in Russian)
6. Fokin Yu.V., Karkishchenko V.N. Vocalization of rats in the ultrasonic range as a model for assessing the stress effects of immobilization, electrocutaneous irritation and physical exercise pharmacodynamics of drugs. *Biomeditsina.* 2010; 5: 17-21. (in Russian)
7. Casaril A.M., Gaffney C.M., Shepherd A.J. Animal models of neuropathic pain. *Int Rev Neurobiol.* 2024; 179: 339-401. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2024.10.004>
8. Baamonde A., Menéndez L. Experiences and reflections about behavioral pain assays in laboratory animals. *J Neurosci Methods.* 2023; 386: 109783.
9. Cheremisova D.A., Romanenko O.S., Klimenko A.V., Abramova A.Yu., Pertsov S.S. Indicators of anxiety and nociceptive sensitivity in female rats with temporomandibular joint dysfunction. *Patogenet.* 2024; 22(2): 97-100. <https://doi.org/10.25557/2310-0435.2024.02.97-100> (in Russian)
10. Klimenko A.V., Romanenko O.S., Cheremisova D.A., Pertsov S.S. Features of nociception in female rats on the model of pain syndrome in the maxillofacial region. *Rossiyskiy zhurnal boli.* 2025; 23(1): 5-9. <https://doi.org/10.17116/pain2025230115> (in Russian)
11. Klimenko A.V., Cheremisova D.A., Romanenko O.S., Pertsov S.S. Behavioral features of female rats in a model of pain syndrome in the maxillofacial region. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny.* 2025; 179(2): 148-52. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2025-179-2-148-152> (in Russian)
12. Sorokina N.D., Pertsov S.S., Gioeva Yu.A., Selitskii G.V., Zangieva A.S. Relationship of postural disorders with temporomandibular joint dysfunction and the state of other body systems. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy.* 2019; 26(2): 47-52. <https://doi.org/10.24411/1609-2163-2019-16353> (in Russian)
13. Hubli M., Leone C. Clinical neurophysiology of neuropathic pain. *Int Rev Neurobiol.* 2024; 179: 125-54. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2024.10.005>
14. Mezenceva L.V., Pertsov S.S., Kopylov F.Yu., Lastoveckij A.G. Mathematical analysis of cardiodynamic stability in postinfarction patients. *Biofizika.* 2017; 62(3): 614-7. (in Russian)
15. Halmuhamedov Zh.A., Sharipov A.M., Shukurov B.I. Toward an objective assessment of acute pain. *Vestnik ekstrennoi meditsiny.* 2019; 12(2): 82-5. (in Russian)
16. Singh M., Kim A., Young A., Nguyen D., Monroe C.L., Ding T., et al. The Mechanism and Inflammatory Markers Involved in the Potential Use of N-acetylcysteine in Chronic Pain Management. *Life (Basel).* 2024; 14(11): 1361. <https://doi.org/10.3390/life14111361>
17. Shabalin V., Shatokhina S., Aleksandrin V., Klimenko A., Pertsov S. Lithos-system technology in the assessment of the organismal state of laboratory animals. *Patogenet.* 2024, 22(4): 32-8. (in Russian)
18. Shabalin V.N., Shatokhina S.N. *Functional morphology of human non-cellular tissues. [Funktsional'naya morfologiya nekletochnykh tkanej cheloveka].* Moscow: RAS, 2019. (in Russian)
19. Romanenko O.S., Klimenko A.V., Cheremisova D.A., Pertsov S.S. Dynamics of body weight and features of eating behavior of female rats in experimental temporomandibular joint dysfunction]. *Patogenet.* 2024; 22(2): 81-3. <https://doi.org/10.25557/2310-0435.2024.02.81-83> (in Russian)
20. Yun S.Y., Kim Y., Kim H., Lee B.K. Effective Technical Protocol for Producing a Mono-Iodoacetate-Induced Temporomandibular Joint Osteoarthritis in a Rat Model. *Tissue Eng Part C Methods.* 2023; 29(9): 438-45. <https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2023.0066>

Сведения об авторах:

Клименко Алексей Владимирович, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. системных механизмов эмоционального стресса и боли ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», klimenko_av@academpharm.ru;

Шатохина Светлана Николаевна, доктор мед. наук, проф., зав. лаб. биокристаллометрии ФГБНУ НИИОПП;

Шабалин Владимир Николаевич, доктор мед. наук, проф., акад. РАН, заслуженный деятель науки РФ, руководитель отдела общей патологии ФГБНУ НИИОПП;

Александрин Валерий Васильевич, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. регуляции агрегатного состояния крови ФГБНУ НИИОПП;

Перцов Сергей Сергеевич, доктор мед. наук, проф., член-кор. РАН, заслуженный деятель науки РФ, директор «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина»; ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

Краткие сообщения

© Тишевская Н.В., Максаков Д.А., 2025

УДК 616.65-002-007.61+612.111.3

Тишевская Н.В., Максаков Д.А.

Характеристика состояния эритрона у крыс с экспериментальной доброкачественной гиперплазией предстательной железы

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, 454092, Челябинск, Россия,
ул. Воровского, д. 64

Цель – определить характер течения эритропоэза у крыс с экспериментальной ДГПЖ, вызванной длительным введением сульпирида.

Методика. Для создания экспериментальной модели доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ) опытной группе крыс ежедневно внутримышечно в течение 30 дней вводили сульпирид в дозе 40 мг/кг. В крови определяли показатели периферического звена эритрона (количество эритроцитов, ретикулоцитов, эритропоэтина). Состояние центрального звена эритрона оценивали по количественному и качественному составу эритробластических островков (ЭО). В камере Горяева подсчитывали общее количество ЭО, после окраски по Паппенгейму оценивали распределение ЭО по классам зрелости.

Результаты. У крыс с ДГПЖ содержание эритропоэтина в сыворотке крови уменьшилось в 1,3 раза, но число эритроцитов и ретикулоцитов не отличалось от контрольных показателей. Общее количество ЭО в костном мозге крыс с ДГПЖ не отличалось от контрольных показателей, но полностью прекратился эритропоэз *de novo* (исчезли ЭО 1 класса зрелости). Количество островков 2 класса зрелости уменьшилось в 3,3 раза, количество реконструирующихся островков увеличилось в 1,4 раза. Зрелые ЭО (ЭО 3 класса зрелости и инволюционные ЭО) сохранялись на уровне контрольных значений.

Заключение. Длительное введение сульпирида, индуцирующего гиперсекрецию пролактина, способствует стимуляции процесса реконструкции эритропоэза в ЭО костного мозга, что, по-видимому, происходит под действием тканевого эритропоэтина, продуцируемого костномозговыми макрофагами. Эта стимуляция реконструкции эритропоэза позволяет эритрону животных с экспериментальной ДГПЖ поддерживать количество эритроцитов в периферической крови на физиологическом уровне.

Ключевые слова: доброкачественная гиперплазия предстательной железы; эритропоэз; эритробластические островки

Для цитирования: Тишевская Н.В., Максаков Д.А. Характеристика состояния эритрона у крыс с экспериментальной доброкачественной гиперплазией предстательной железы. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2025; 69(3): 84–89.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.84-89

Для корреспонденции: Тишевская Наталья Викторовна, e-mail: natalya-tishevskaya@yandex.ru

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Тишевская Н.В.; создание модели ДГПЖ – Максаков Д.А.; сбор экспериментального материала – Тишевская Н.В., Максаков Д.А.; статистическая обработка материала, написание текста и редактирование – Тишевская Н.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Финансирование. Исследование не имело финансовой поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Материалы статьи нигде ранее не публиковались.

Поступила 09.04.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Tishevskaya N.V., Maksakov D.A.

Characteristics of the erythron in rats with experimental benign prostatic hyperplasia

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, 454092, Russian Federation

Aim: to determine the features of erythropoiesis in rats with experimental benign prostatic hyperplasia (BPH) induced by long-term sulpiride administration.

Methods. Experimental model of BPH: rats were administered sulpiride 40 mg/kg, IM, daily for 30 days. The peripheral erythron component (erythrocyte and reticulocyte count and erythropoietin level) was determined in the blood. The condition of the central erythron component was assessed by the quantitative and qualitative composition of erythroblastic islets (EI). The total number of EI was counted in a Goryaev chamber. After Pappenheim staining, the EI distribution by maturity classes was examined.

Results. In rats with BPH, the blood serum content of erythropoietin was decreased by 1.3 times, but the count of erythrocytes and reticulocytes did not differ from the control. The total number of EI in the bone marrow of rats with BPH did not differ from the control, but *de novo* erythropoiesis completely stopped (maturity class 1 EI disappeared). The number of maturity class 2 islets decreased by 3.3 times, and the number of reconstructing islets increased by 1.4 times. Mature EI (class 3 and involuting EI) remained at the control level.

Conclusion. Long-term administration of sulpiride, which induces prolactin hypersecretion, facilitates the stimulation of erythropoiesis reconstruction in the bone marrow, which is apparently caused by tissue erythropoietin produced by bone marrow macrophages. This stimulation of erythropoiesis reconstruction maintains the number of erythrocytes in the peripheral blood of rats with BPH at a physiological level.

Keywords: benign prostatic hyperplasia; erythropoiesis; erythroblastic islets

For citation: Tishevskaya N.V., Maksakov D.A. Characteristics of the erythron in rats with experimental benign prostatic hyperplasia. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(3): 84–89. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.84-89

For correspondence: Natalia V. Tishevskaya, Doctor of Medical Sciences, prof. of the Department of Normal Physiology of the South Ural State Medical University, 64 Vorovsky Str., Chelyabinsk, 454092, Russian Federation, e-mail: natalya-tishevskaya@yandex.ru

Author's contribution: concept and design of the study – Tishevskaya N.V.; experimental model of benign prostatic hyperplasia – Maksakov D.A.; collection and processing of material – Tishevskaya N.V., Maksakov D.A.; statistical processing, writing and editing the text – Tishevskaya N.V. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

Information about the authors:

Tishevskaya N.V., <https://orcid.org/0000-0002-4912-3111>

Financing. The study had no sponsorship.

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

Received 09.04.2025

Accepted 25.08.2025

Published 30.09.2025

Введение

Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) является одной из самых распространенных патологий мочеполовой системы у мужчин старше 50 лет. Заболевание это полизиологическое, в его развитии играют роль наследственные факторы и особенности возрастных изменений гормонального фона. Изучением патогенеза ДГПЖ исследователи занимаются уже несколько десятилетий, но с каждым годом появляются новые сведения о причинах, ведущих к развитию усиленной пролиферации клеток предстательной железы. Ранее нами были получены данные о том, что у крыс с экспериментальной ДГПЖ клетки железистого эпителия синтезируют в два

раза больше тканевого эритропоэтина и экспрессируют на своей поверхности в 1,4 раза больше рецепторов к этому гормону [1]. При этом продукция тканевого эритропоэтина и экспрессия рецепторов к нему оказались независимыми процессами, и если у здоровых половозрелых крыс-самцов количество эритропоэтиновых рецепторов напрямую зависело от уровня продукции почечного эритропоэтина, то при ДГПЖ эта связь была нарушена. Удивительно то, что увеличение продукции тканевого эритропоэтина и повышенная экспрессия рецепторов к нему в ткани простаты у крыс с ДГПЖ наблюдалась на фоне достоверного снижения содержания почечного эритропоэтина в сыворотке крови, что, несомненно, должно было отразиться на состоянии эритрона в целом. Целью дан-

ной работы явилось определение характера течения эритропоэза у крыс с экспериментальной ДГПЖ, вызванной длительным введением сульпирида.

Методика

Работа была выполнена на 20 белых беспородных крысах-самцах возраста 16–18 месяцев, ранее использовавшихся в виварии для получения потомства. Вес животных к началу эксперимента составлял 360–410 г. Эксперимент проводился с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/EEC) и Хельсинкской декларации, и соответствовал приказу Минздрава РФ от 01.04.2016 №199Н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Крысы содержались в условиях свободного доступа к воде и пище, при температуре воздуха в виварии +24±2°C в соответствии с правилами СП 2.2.1.3218. Ежедневный рацион животных состоял из специализированного гранулированного корма, соответствующего по содержанию питательных веществ, витаминов и минералов международным стандартам и ГОСТ Р 50258-92. Все болезненные манипуляции с животными и их эвтаназию (путем дислокации шейных позвонков) проводили под эфирным наркозом в отдельном от вивария помещении.

Для создания экспериментальной модели доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ) [1] опытной группе крыс ($n=10$) ежедневно внутримышечно в течение 30 дней вводили сульпирид (Эглонил, раствор для внутримышечного введения, Sanofi Winthrop Industrie, Франция) в дозе 40 мг/кг. Крысам контрольной группы ($n=10$) ежедневно внутримышечно вводили по 0,5 мл 0,9% раствора хлорида натрия. На следующий день после последней инъекции сульпирида в крови контрольных и подопытных крыс определяли показатели периферического звена эритрона. Затем все животные были выведены из эксперимента. Эритроциты подсчитывали в камере Горяева, ретикулоциты – в мазке крови после 30-минутного окрашивания бриллиантовым крезиловым синим. Содержание эритропоэтина в сыворотке определяли методом иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов «Эритропоэтин-ИФА-Бест» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск).

Для оценки эффективности создания модели ДГПЖ у каждого животного определяли относительную массу всей предстательной железы и относительную массу ее дорсолатеральных долей.

Из костного мозга бедренных костей крыс обеих групп выделяли эритробластические островки (ЭО) [2]. Костный мозг получали в результате промывания канала бедренной кости 1 мл среды выделения. 100 мл среды выделения содержали 70 мл среды RPMI-1640 (ПанЭко,

Россия), 32 мл сыворотки эмбриона теленка (ПанЭко, Россия) и 1 мл гепарина (5000 МЕ, ФГУП «Московский Эндокринный Завод»). Костный мозг суспендировали с помощью стеклянной пастеровской пипетки. В суспензии с помощью камеры Горяева подсчитывали общее количество ЭО по формуле:

Общее количество ЭО = $A \times 250 \times 2 \times 10^6/100$,
где А – количество ЭО в 100 больших квадратах; 250 – множитель, приводящий к объему суспензии 1 мкл (объем большого квадрата в камере составляет 1/250 мкл); 2 – разведение суспензии [3]. Суспензию костного мозга, полученную из одной бедренной кости, разливали в отдельные стерильные пластиковые чашки Петри диаметром 35 мм (Corning-Costar, США). Для отделения ЭО от взвеси костномозговых клеток, чашки Петри на 30 мин помещали в мультигазовый инкубатор (МСО-18М, SANYO, Япония) при температуре 37°C, относительной влажности 95% и содержании CO₂ 4,5%. По окончании инкубации с помощью шприца монослой ЭО отмывали от неадгезировавшихся клеток, используя для этого среду RPMI-1640. После окраски по Паппенгейму адгезированных к поверхности чашек Петри островков оценивали их распределение по 5-ти классам зрелости. «Корона» ЭО 1 класса была представлена дифференцирующимися из колониеобразующей единицы эритроцитарной (КОЕЭ) проэритробластами и базофильными эритробластами с количеством клеток от 2 до 8; «корона» ЭО 2 класса – базофильными и полихроматофильными эритробластами с количеством клеток от 9 до 16; ЭО 3 класса содержали от 17 до 32 полихроматофильных и оксифильных эритробластов; «корона» инволюцирующих островков (ЭОинв) была представлена поздними полихроматофильными, оксифильными эритробластами и ретикулоцитами с числом ядросодержащих клеток менее 16. К реконструирующимся островкам (ЭОрек) относили инволюцирующие ЭО, в «короне» которых обнаруживались проэритробlastы и/или базофильные эритробlastы [4].

Статистическая обработка данных проводилась с помощью лицензионного пакета прикладных программ: Excel 2020 и PAST версии 4.03. Для оценки достоверности различий между группами использовали непараметрические критерии Манна–Уитни и хи-квадрат. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты

По окончании эксперимента у животных опытной группы относительная масса всего органа увеличилась в 1,4 раза, относительная масса его дорсолатеральных отделов – в 2 раза. Таким образом, многократное введение сульпирида способствовало возникновению доброкачественной гиперплазии предстательной железы.

Развитие ДГПЖ у крыс сопровождалось достоверным снижением количества эритропоэтина, продуцируемого перитубулярными клетками почек: в сыворотке крови подопытных животных количество эритропоэтина уменьшилось в 1,3 раза (см. табл.). При этом число эритроцитов и ретикулоцитов в периферической крови не отличалось от контрольных показателей. Однако на длительное введение сульпирида заметно отреагировало центральное звено эритрона. Общее количество эритробластических островков в костном мозге крыс с ДГПЖ не отличалось от показателей контрольных крыс, но при этом полностью исчезли ЭО 1 класса зрелости, которые в норме формируются на основе контакта костномозговых макрофагов с колониеобразующей единицей эритробластарной (КОЕэ). По этой причине в 3,3 раза уменьшилось и количество островков 2 класса зрелости, которые представляют собой следующий этап в цепи пролиферации и дифференцировки эритроидных клеток – они содержат в своей «короне» молодые эритроидные клетки, образовавшиеся в результате деления КОЕэ (проэритробласти и базофильные эритробласти). На фоне явного угнетения эритропоэза *de novo* было отмечено увеличение числа реконструирующихся островков: количество ЭОрек в костном мозге крыс с ДГПЖ увеличилось в 1,4 раза. Это позволило центральному звену эритрона подопытных животных сохранить пул зрелых ЭО на уровне нормы – количество ЭО 3 класса зрелости и инволю-

цирующих ЭО в опытной группе не отличалось от контрольных значений.

Обсуждение

В нашей лаборатории ранее были получены данные о том, что развитие эритроидных клеток в ЭО подвержено влиянию многих факторов, среди которых, наряду с гемопоэтическими цитокинами [5], значимыми являются лекарственные вещества [6] и природные регуляторные молекулы [7]. Продолжительное введение сульпирида в организм взрослых крыс-самцов индуцирует гиперсекрецию пролактина, под влиянием которого в предстательной железе увеличивается активность 5-альфа-редуктазы. Этот фермент способствует превращению тестостерона в дигидротестостерон, повышая чувствительность эпителиальных клеток ацинусов простаты к андрогенам, что, в конечном итоге, приводит к гипертрофии и усиленной пролиферации железистого эпителия. Стимулирующее влияние пролактина на эритропоэз *in vivo* и *in vitro* известно достаточно давно [8, 9]. При культивировании ранних клеток-предшественниц (CD34+) в присутствии пролактина наблюдался заметный рост числа колоний, образованных в результате пролиферации бурстобразующих единиц эритробластарных (БОЕэ) [10]. Авторы данного исследования доказали, что пролактин обладает реактогенным действием – он увеличивает экспрессию эритропоэтиновых рецепторов на клетках CD34+, что и способствует в даль-

Таблица /Table

Изменения показателей периферического и центрального звеньев эритрона при экспериментальной доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ), вызванной длительным введением сульпирида

Changes in the indices of peripheral and central links of the erythron in benign prostatic hyperplasia (BPH) caused by long-term administration of sulpiride in an experiment

Показатели Indicators	Контроль (n=10) Control (n=10)	Опыт (ДГПЖ) (n=10) Experience (BPH) (n=10)
Эритропоэтин в сыворотке крови (МЕ/мл) Serum erythropoietin (IU/ml)	21,6 ± 0,54	16,2 ± 0,44*
Количество эритроцитов в крови ($\times 10^{12}/\text{л}$) Number of red blood cells in the blood ($\times 10^{12}/\text{л}$)	8,3 ± 0,3	7,9 ± 0,2
Количество ретикулоцитов в крови ($\times 10^9/\text{л}$) / Reticulocyte count in blood ($\times 10^9/\text{л}$)	37,7 ± 2,8	35,5 ± 1,9
Общее количество ЭО ($\times 10^3/\text{бедр. кость}$) / Total EI ($\text{m}10^3/\text{femur}$)	241,6 ± 5,7	239,4 ± 6,1
ЭО 1 класса зрелости (%) / EI 1 st grade maturity (%)	3,2 ± 0,1	0
ЭО 2 класса зрелости (%) / EI 2 nd grade maturity (%)	5,9 ± 0,2	1,8 ± 0,1*
ЭО 3 класса зрелости (%) / EI 3 rd grade maturity (%)	28,4 ± 1,8	25,3 ± 1,5
Инволюцирующие ЭО (%) / Involving EI (%)	50,2 ± 2,3	54,7 ± 1,2
Реконструирующиеся ЭО (%) / Reconstructed EI (%)	10,7 ± 0,6	15,2 ± 0,8*

Примечание. * отмечены достоверные различия между контрольной и опытной группами ($p<0,05$); ЭО – эритробластические островки.

Note. * significant differences between the control and experimental groups are indicated ($p<0,05$); EI – erythroblastic islets.

нейшем дифференцировке стволовых клеток в эритроидном направлении. При изучении влияния рекомбинантного человеческого пролактина на кроветворение у летально и сублетально облученных мышей были получены данные о стимуляции эритропоэза и увеличении выживаемости животных [11].

Известно, что главный регулятор развития эритроидных клеток – эритропоэтин синтезируется не только перитубулярными клетками почек. Этот гормон синтезируют нейроны и астроциты головного мозга [12, 13], мотонейроны шейного отдела спинного мозга [14], миобласти скелетных мышц [15], клетки сетчатки глаза [16]. Кроме того, эритропоэтин синтезирует и одна из самых гетерогенных популяций клеток млекопитающих – макрофаги [17, 18]. В костном мозге способностью синтезировать эритропоэтин обладают как эритроидные клетки-предшественницы [19], так и макрофаги, вокруг которых формируется «корона» эритроидных клеток [20]. В своем недавнем исследовании канадские учёные [21], демонстрируя способность макрофагов ЭО синтезировать эритропоэтин, высказали предположение о том, что продукция эритропоэтина в макрофагах ЭО *in situ*, поддерживает базальный эритропоэз в костном мозге. Вышеизложенная гипотеза согласуется с полученными нами данными. Мы также полагаем, что именно продукция эритропоэтина центральными макрофагами ЭО обеспечивает непрерывное развитие эритроидных клеток в костном мозге, поскольку макрофаги реализуют конститутивный тип секреции эритропоэтина, в отличие от перитубулярных клеток почек, которые осуществляют регулируемую секрецию гормона преимущественно в ответ на гипоксический стимул.

Заключение

Длительное введение животным сульпирида, индуцирующего гиперсекрецию пролактина, способствует стимуляции процесса реконструкции эритропоэза в ЭО костного мозга, что, по-видимому, происходит под действием тканевого эритропоэтина, продуцируемого костномозговыми макрофагами. Эта стимуляция повторного вовлечения костномозговых макрофагов в эритропоэз, способствующая формированию ЭО, позволяет эритроцитам животных с экспериментальной ДГПЖ поддерживать количество эритроцитов в периферической крови на физиологическом уровне.

Литература (п.п. 8-21 см. References)

1. Тишевская И.В., Максаков Д.А. Экспрессия эритропоэтина и его рецепторов в ткани предстательной железы крыс в норме и при экспериментальной доброкачественной гиперплазии. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2017; 103(10): 1170-80.

2. Харченко М.Ф., Корнилова Н.В., Захаров Ю.М., Битюкова Е.С. Глико-заминогликаны эритробластических островков костного мозга крыс. *Физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 1994; 80(11): 32-6.
3. Тишевская Н.В., Захаров Ю.М., Тишевской И.А. Влияние эритропоэтина в различных концентрациях на культуру эритробластических островков. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 1998; 4(12): 1412-9.
4. Тишевская Н.В., Шевяков С.А., Захаров Ю.М. Влияние гуморальных факторов на фагоцитарную активность центральных макрофагов в культуре эритробластических островков. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2002; 88(9): 1191-8.
5. Тишевская Н.В., Шевяков С.А., Захаров Ю.М. Влияние эритропоэтина и макрофагального колониестимулирующего фактора на пролиферативную активность эритроидных клеток в культурах эритробластических островков. *Медицинский академический журнал*. 2003; 3(3): 67-72.
6. Волчегорский И.А., Тишевская Н.В., Дементьева Е.В. Антианемическое действие реамберина в остром периоде аллоксанового диабета у крыс. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2008; 71(6): 23-7.
7. Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Болотов А.А. Влияние предварительного введения суммарной РНК клеток костного мозга на динамику восстановления эритропоэза у крыс после острого гамма-облучения. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016; 161(5): 670-3.

References

1. Tishevskaya N.V., Maksakov D.A. Expression of erythropoietin and its receptors in the prostate of normal rats and rats with experimental hyperplasia. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2017; 103(10): 1170-80. (in Russian)
2. Harchenko M.F., Kornilova N.V., Zaharov Yu.M., Bityukova E.S. Glicosaminoglycans erythroblasts islets in the bone marrow of rats. *Fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 1994; 80(11): 32-6. (in Russian)
3. Tishevskaya N.V., Zakharov Yu.M., Tishevskoy I.A. Effect of erythropoietin in various concentrations on the culture of erythroblast islets. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 1998; 84(12): 1412-9. (in Russian)
4. Tishevskaya N.V., Shevyakov S.A., Zakharov Yu.M. The effect of humoral factors on phagocytic activity of central macrophages in the erythroblast islets culture. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2002; 88(9): 1191-8. (in Russian)
5. Tishevskaya N.V., Shevyakov S.A., Zakharov Yu.M. Effect of erythropoietin and macrophage colony-stimulating factor on proliferative activity of erythroid cells in erythroblastic islets cultures. *Meditinskii akademicheskiy zhurnal*. 2003; 3(3): 67-72. (in Russian)
6. Volchegorskii I.A., Tishevskaya N.V., Dement'eva E.V. Antianemic effect of reamberin in rats with acute alloxan-induced diabetes. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2008; 71(6): 23-7. (in Russian)
7. Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Bolotov A.A. Effect of preliminary administration of total RNA of bone marrow cells on the dynamics of erythropoiesis recovery in rats after acute gamma irradiation. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2016; 161(5): 670-3. (in Russian)
8. Socolovsky M., Dusander-Fourt I., Lodish H.F. The prolactin receptor and severely truncated erythropoietin receptors support differentiation of erythroid progenitors. *J. Biol. Chem.* 1997; 272(22): 14009-12. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.22.14009>

9. Bellone G., Astarita P., Artusio E., Silvestri S., Mareschi K., Turletti A., et al. Bone marrow stroma-derived prolactin is involved in basal and platelet-activating factor-stimulated in vitro erythropoiesis. *Blood*. 1997; 90(1): 21-7.
10. Bellone G., Geuna M., Carbone A., Silvestri S., Foa R., Emanuelli G., et al. Regulatory action of prolactin on the in vitro growth of CD34+ve human hemopoietic progenitor cells. *J. Cell Physiol*. 1995; 163(2): 221-31. <https://doi.org/10.1002/jcp.1041630202>
11. Zhang W.C., Sun R., Zhang J., Zhang J., Tian Z. Recombinant human prolactin protects against irradiation-induced myelosuppression. *Cell Mol. Immunol*. 2005; 2(5): 379-85.
12. Bernaudin M., Bellail A., Marti H.H., Yvon A., Vivien D., Duchatelle I., et al. Neurons and astrocytes express EPO mRNA: Oxygen-sensing mechanisms that involve the redox-state of the brain. *Glia*. 2000; 30(3): 271-8. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1136\(200005\)30:3%3C271::AID-GLIA6%3E3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1136(200005)30:3%3C271::AID-GLIA6%3E3.0.CO;2-H)
13. Knabe W., Knerlich F., Washausen S., Kietzmann T., Siren A.L., Brunnett G., et al. Expression patterns of erythropoietin and its receptor in the developing midbrain. *Anat. Embryol*. 2004; 207: 503-2. <https://doi.org/10.1007/s00429-003-0365-y>
14. Dale E.A., Sariotomo I., Mitchell G.S. Cervical spinal erythropoietin induced phrenic motor facilitation via extracellular signal-regulated protein kinase and Akt signaling. *J. Neurosci*. 2012; 32(17): 5973-83. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3873-11.2012>
15. Jia Y., Suzuki N., Yamamoto M., Gassmann M., Noguchi C.T. Endogenous erythropoietin signaling facilitates skeletal muscle repair and recovery following pharmacologically induced damage. *FASEB J*. 2012; 26(7): 2847-58. <https://doi.org/10.1096/fj.11-196618>
16. Hernandez C., Simo R. Erythropoietin produced by the retina: its role in physiology and diabetic retinopathy. *Endocrine*. 2012; 41(2): 220-6. <https://doi.org/10.1007/s12020-011-9579-6>
17. Ohls R.K., Li Y., Trautman M.S., Christensen R.D. Erythropoietin production by macrophages from preterm infants: implications regarding the cause of the anemia of prematurity. *Pediatr Res*. 1994; 35(2): 169-70. <https://doi.org/10.1203/00006450-199402000-00008>
18. Luo B., Gan W., Liu Z., Shen Z., Wang J., Shi R., et al. Erythropoietin signaling in macrophages promotes dying cell clearance and immune tolerance. *Immunity*. 2016; 44: 287-302. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.01.002>
19. Stopka T., Zivnu J.H., Stopkova P., Prchal J.F., Prchal J.T. Humoral hematopoietic progenitors express erythropoietin. *Blood*. 1998; 91(10): 3766-72.
20. Vogt C., Pentz S., Rich I.N. A role for the macrophage in normal hemopoiesis: III. *In vitro* and *in vivo* erythropoietin gene expression in macrophages detected by *in situ* hybridization. *Exp. Hematol*. 1989; 17(5): 391-7.
21. Perron-Deshaires G., St-Louis P., Romero H., Scorz T. Impact of erythropoietin production by erythroblastic island macrophages on homeostatic murine erythropoiesis. *Int. J. Mol. Sci*. 2020; 21(23): 8930. <https://doi.org/10.3390/ijms21238930>

Сведения об авторах:

Тишиевская Наталья Викторовна, доктор мед. наук, проф. каф. нормальной физиологии им. акад. Ю.М. Захарова ФГБОУ ВО «Южно-Уральского государственного медицинского университета» Минздрава России, e-mail: natalya-tishhevskaya@yandex.ru;

Максаков Дмитрий Александрович, аспирант каф. нормальной физиологии им. акад. Ю.М. Захарова ФГБОУ ВО «Южно-Уральского государственного медицинского университета» Минздрава России.

Обзоры

© Коллектив авторов, 2025

УДК 616.24-003.4-002:579.61

Донников М.Ю., Морозкина А.В., Коваленко Л.В.

Роль микробиоты в патогенезе и патоморфозе муковисцидоза

БУ ВО «Сургутский государственный университет», 628416, Сургут, Россия, проспект Ленина, д. 1

Обзор содержит актуальные представления о микробиоте легких и ее важной роли на разных этапах развития такого тяжелого наследственного заболевания, как муковисцидоз. Еще 20 лет назад он был фатальным заболеванием, в современных условиях муковисцидоз демонстрирует тенденцию к патоморфозу, так как с помощью базисной и таргетной патогенетической терапии становится контролируемой патологией. Дисбиоз микробного сообщества, непосредственно вовлеченного в порочный круг при муковисцидозе, играет ведущую роль в клинических проявлениях заболевания, прежде всего, патологии дыхательной системы. Новые молекулярно-генетические методы секвенирования позволили расшифровать сложную динамичную картину микробиома дыхательных путей у пациентов разных возрастных категорий, что позволило разработать модели, наиболее точно описывающие этапы развития микробиоты в зависимости от стадии заболевания. Изучение патогенных микробных сообществ, корреляции их состава с клиническим статусом пациентов и влияния модуляторов функции трансмембранных регуляторов муковисцидоза, открывают новые возможности в поиске специфичных биомаркеров заболевания, позволяющих объективно оценить прогноз для каждого пациента. Несмотря на моногенную наследственную природу, муковисцидоз это многофакторное заболевание, при котором взаимодействие генотипа пациента с микробиомом определяет спектр клинических проявлений и эффективность базисной и таргетной терапии.

Ключевые слова: муковисцидоз; патогенез; патоморфоз; микробиота; дисбиоз; микробиом; таргетная терапия

Для цитирования: Донников М.Ю., Морозкина А.В., Коваленко Л.В. Роль микробиоты в патогенезе и патоморфозе муковисцидоза. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2025; 69(3): 90–100.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.90-100

Участие авторов: концепция, написание текста статьи – Донников М.Ю.; поиск и анализ научной литературы, написание текста – Морозкина А.В.; концепция, корректировка и редактирование – Коваленко Л.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей – все авторы.

Для корреспонденции: Донников Максим Юрьевич, e-mail: donnikov@gmail.com

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-25-20160, <https://rscf.ru/project/24-25-20160/>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 03.04.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Donnikov M.Yu., Morozkina A.V., Kovalenko L.V.

The role of microbiota in pathogenesis and pathomorphosis of cystic fibrosis

Surgut State University, 1 Prospekt Lenina, Surgut 628416, Russian Federation

The review presents current ideas about the lung microbiota and its important role at different stages of the development of cystic fibrosis, a severe hereditary disease. Just 20 years ago, cystic fibrosis was a fatal disease, but now it demonstrates a tendency towards pathomorphosis, since it becomes a controllable pathology due to basic and targeted pathogenetic therapy. Dysbiosis of the microbial community directly involved in the cystic fibrosis vicious cycle plays a leading role in clinical manifestations of the disease, primarily in the pathology of the respiratory system. New molecular sequencing methods have made it possible to decipher the complex dynamic picture of the respiratory tract microbiome in patients of different age categories. This allowed creating models that most accurately describe the stages of microbiota development depending on the stage of the disease.

Studying pathogenic microbial communities, correlations of their composition with the clinical status of patients, and effects of modulators of the function of the transmembrane regulator of cystic fibrosis open new opportunities in the search for

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.90-100

specific biomarkers of the disease to provide an objective prognosis assessment for each patient. Despite its monogenic hereditary nature, cystic fibrosis is a multifactorial disease, in which the interaction of the patient's genotype with the microbiome determines the spectrum of clinical manifestations and the effectiveness of basic and targeted therapy.

Keywords: cystic fibrosis; pathogenesis; pathomorphosis; microbiota; dysbiosis; microbiome; targeted therapy

For citation: Donnikov M.Yu., Morozkina A.V., Kovalenko L.V. The role of microbiota in pathogenesis and pathomorphosis of cystic fibrosis. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(3): 90–100. (in Russian)

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.90-100

Author's contribution: concept, writing the text – Donnikov M.Yu.; search and analysis of scientific literature, writing the text – Morozkina A.V.; concept, correction and editing – Kovalenko L.V. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: *Maksim Yu. Donnikov*, Senior Researcher at the Scientific Educational Center, PhD, Medical Institute of Surgut State University; 1 Lenina ave, Surgut, 628416, Russian Federation, e-mail: donnikov@gmail.com

Information about the authors:

Donnikov M.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-0120-4163>

Morozkina A.V., <https://orcid.org/0009-0000-0547-4959>

Kovalenko L.V., <https://orcid.org/0000-0002-0918-7129>

Financing. The study had financial support from the grant of the Russian Science Foundation 24-25-20160, <https://rscf.ru/project/24-25-20160/>

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Received 03.04.2025

Accepted 25.08.2025

Published 30.09.2025

Введение

Муковисцидоз (МВ) относится к многофакторным моногенным заболеваниям человека, патофизиология которого изучена недостаточно подробно, особенно в части инфекционного поражения легких, обусловленного воздействием патогенной микрофлоры. Хроническая инфекция дыхательных путей является ведущей причиной летальности при МВ, несмотря на значительный прогресс в терапии заболевания. До недавнего времени изучение легочной патологии при МВ фокусировалось на известных культивируемых патогенах. С развитием технологий секвенирования, исследование микроорганизмов расширено до подробного изучения состава микробных сообществ, включая некультивируемые виды.

Прогресс в терапии МВ, демонстрирующий значительное увеличение продолжительности жизни таких пациентов, особенно при подключении таргетных препаратов, позволяет использовать понятие *патоморфоза* – модификации течения заболевания под влиянием различных факторов. В настоящее время патоморфоз МВ можно рассматривать как некий приобретенный признак, который генетически не закреплен (исключая исследования в области генной терапии наследственных заболеваний) и который проявляется в негативной (классической) форме после прекращения терапии.

В данном обзоре мы обобщаем имеющийся массив накопленной за последние годы научной информации, описывающей патогенетическую роль микроорганизмов

в составе микробиоты в эволюции муковисцидоза как заболевания, к которому применимо понятие патоморфоза.

Патогенетические аспекты муковисцидоза

Муковисцидоз (кистозный фиброз) – полигенное аутосомно-рецессивное заболевание, развивающееся при наличии двух мутаций в гене, кодирующем трансмембранный регулятор муковисцидоза (*CFTR*) [1]. К настоящему времени известно более 2100 мутаций в гене *CFTR*, классифицируемых по функциональному эффекту на 6 классов [2]: 1) дефект синтеза белка (нonsense-мутации) и нулевая экспрессия на апикальной мембране; 2) дефектный транспорт синтезированного белка; 3) отсутствие функции белка, встроенного в апикальную мембрану; 4) сниженная функция белка при нормальном количестве в мембране; 5) сниженное количество белка с нормальной функцией; 6) сниженная стабильность белка.

Белок *CFTR* функционирует в качестве анионного трансмембранного канала в мембранах эпителиальных клеток, поэтому мутации гена *CFTR* являются этиологическим фактором, определяющим дальнейший порочный круг событий: снижение транспорта ионов хлорида и бикарбоната в клетки, изменение состава секрета дыхательных путей и экзокринных желез (в первую очередь, поджелудочной железы), снижение мукоцилиарного клиренса, хроническое инфицирование и воспаление, и в конечном итоге, дисфункция легких и поджелудочной железы с развитием дыхательной недостаточности. Понимание причин патологии и расшифровка молекулярных

механизмов развития муковисцидоза (МВ) за последние декады интенсивного научного поиска привело к существенному увеличению продолжительности и качества жизни пациентов [3].

Ряд исследований установил взаимосвязь между генотипом и респираторным фенотипом [4] – например, колонизация одним из самых грозных микробных патогенов *Pseudomonas aeruginosa* прямо связана с наличием мутации F508del. Однако, для других мутаций не наблюдается значимой корреляции с прогрессированием заболевания, а пациенты с одинаковым генотипом (в т.ч. сибы) дискордантны по степени клинических проявлений.

Прежде, чем рассматривать детали влияния таргетной терапии на микробиом дыхательной системы пациентов с МВ, необходимо обсудить вопросы патогенеза заболевания и элементы порочного круга, ведущего к критичной дисфункции легких. Первые модели воспаления в дыхательных путях при МВ постулировали, что именно ухудшение мукоцилиарного клиренса ведет к присоединению бактериальной инфекции, которая, в свою очередь, стимулирует воспалительный ответ. Но недавние исследования на животных моделях установили, что снижение активности белка CFTR вызывает воспалительную реакцию даже в отсутствие инфекционных агентов [5]. У детей с МВ без клинических и микробиологических проявлений инфекции и без КТ-признаков патологии дыхательных путей, уровни таких маркеров воспаления в бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ), как количество нейтрофилов, интерлейкина-8, внеклеточной ДНК, прямо коррелировали с концентрацией муцинов в БАЛ. Это свидетельствует о том, что изменения нормальных свойств секрета дыхательных путей предшествуют структурным изменениям и присоединению инфекции [6]. Исследования на животных так же показывают, что воспаление в дыхательных путях не зависит от присутствия инфекционных агентов [7].

Ряд механизмов объясняют подобный парадокс: обструкция вязкой мокротой просвета бронхов вызывает гипоксию, клеточный стресс, некроз и высвобождение эндогенных молекул DAMPs (damage-associated molecular patterns), являющихся триггерами воспалительного ответа [8]. Аномальный состав секрета дыхательных путей также связан с нарушением иммунного ответа и повышением уровней Т-лимфоцитов, продуцирующих интерлейкин-17 в модели МВ (мыши Sccn1b-Tg с гиперэкспрессией натриевого канала ENaC и обезвоженным секретом дыхательных путей) [9]. Кроме того, структурные клетки дыхательных путей и сосудистого русла способствуют развитию воспаления при снижении активности белка CFTR: так, эндотелиоциты с нефункциональным CFTR постоянно экспрессируют интерлейкин-8; эпителиоциты без активного CFTR, демонстрируют усиленную продук-

цию провоспалительных интерлейкинов-6, -8. Таким образом, для МВ характерны нарушения регуляции иммунитета поверхностей слизистых [10].

Микробное сообщество в патогенезе муковисцидоза

Термин *микробиота* относится ко всем микроорганизмам (бактерии, вирусы, грибы, археи, простейшие), представленным в определенной экосистеме. Изучение микробиоты методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) с помощью транскриптомных и метаболомных методик позволяет максимально описать *микробиом*, включая также внутриклеточные механизмы и взаимодействия между микроорганизмами и окружающей средой (организмом хозяина) [11]. *Дисбиоз* характеризует изменения микробиома, связанные с заболеванием.

Более 80 лет, с момента первого описания МВ, микробиологи фокусировались на изучении небольшого количества канонических патогенов, включая *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *H. influenza*, комплекса *B. cereus* (ВСС). Но, с развитием в микробиологии независимых от традиционных методов культивирования технологий секвенирования, происходит смена парадигм, и теперь исследование микроорганизмов расширено до подробного изучения состава микробных сообществ, в т.ч. некультивируемых видов. Главными бактериальными типами (филами) в легких являются бактероиды и фирмикуты, в меньшей степени – протеобактерии и актинобактерии. Методами секвенирования 16S рибосомальной РНК (рРНК) был определен ядерный (core) микробиом, одинаковый у большинства людей без патологии дыхательной системы [12]. В его состав входят преимущественно *Streptococcus*, *Hemophilus*, *Neisseria*, *Prevotella*, *Veilonella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, причем последние четыре рода являются строгими анаэробами несмотря на то, что легкие насыщены кислородом. По мере развития при МВ хронического воспаления, в легких формируются обширные зоны гипоксии, наличие которых вызвано образованием слизистых пробок из вязкого секрета [13].

Ведущую роль в раннем детском возрасте при МВ играет микробиота кишечника, изменения в которой вызывают дисбиоз в дыхательных путях, начиная с момента рождения [14]. К 11 году жизни микробное разнообразие достигает пика, но затем колонизация *P. aeruginosa* становится хронической, затем – доминирующей, а богатство и разнообразие микрофлоры начинают снижаться с возрастом, способствуя прогрессированию МВ [15]. Микробное разнообразие является объективным маркером функции легких. При длительном наблюдении за пациентами (10 лет и более) микробное разнообразие сохраняется у пациентов со стабильной респираторной функ-

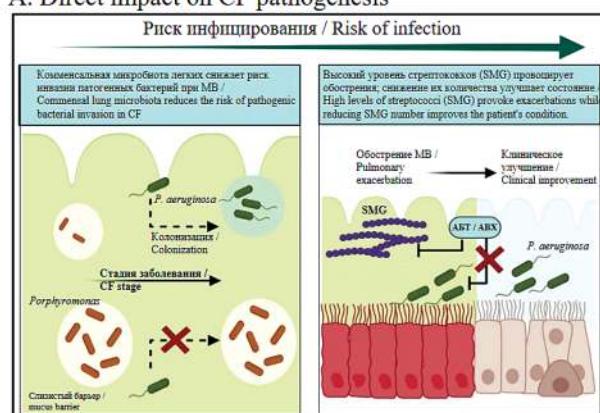
цией, и снижается при ухудшении показателя ОФВ₁ [16]. Это снижение прямо коррелирует с количеством доминантного патогена (обычно *P. aeruginosa*), которое растет с возрастом. Другие таксоны, ассоциированные с патогенезом при МВ (*Haemophilus*, *Staphylococcus*, *Burkholderia*) превалируют у взрослых пациентов [17]. Ряд других патогенов (неферментирующие грамотрицательные бациллы *Achromobacter*, *Stenotrophomonas*) имеют схожие паттерны колонизации и также способствуют персистенции инфекции в легких при МВ [18].

Прямое влияние на патогенез МВ опосредовано колонизацией комменсалами (*Porphyromonas catoniae*), что является биомаркером снижения риска инфицирования синегнойной палочкой (рис. 1, А/А) [19]. С другой стороны, инфицирование стрептококками группы *S. milleri/anginosus* (SMG) в начале обострения ассоции-

ировано с ухудшением состояния пациентов; снижение концентрации SMG вызывает положительный клинический эффект [20]. Бактерии-комменсалы при МВ могут двояко влиять на вирулентность патогенных микроорганизмов (рис. 1Б/В). В модели ко-инфицирования синегнойной палочкой и комменсальной микробиотой эпителиальных клеток человека разные штаммы *Streptococcus miti* снижают воспаление, вызванное *P. aeruginosa* за счет уменьшения выработки интерлейкина-8 и препятствия формированию нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ, NET, neutrophil extracellular trap) [21]. Данный механизм реализуется изменением метаболизма комменсалов, сопровождающегося модификацией микроокружения. Наоборот, некоторые комменсальные стрептококки, обитающие в ротовой полости, усиливают патогенные свойства синегнойной палочки путем повышения экс-

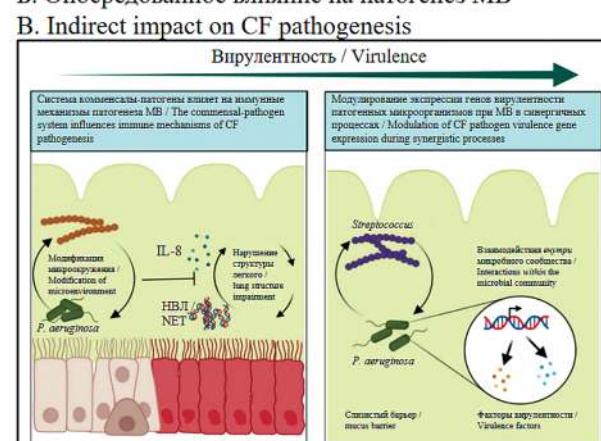
А. Прямое влияние на патогенез МВ

A. Direct impact on CF pathogenesis



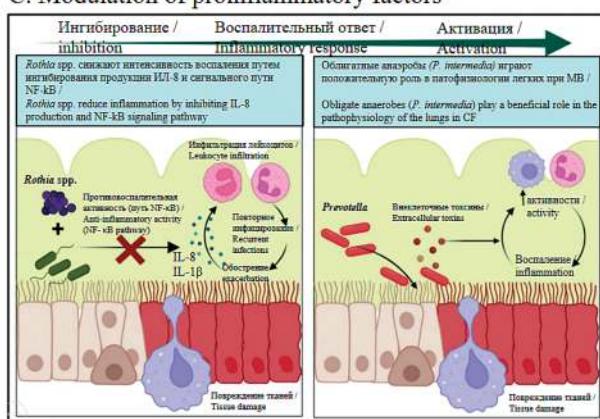
Б. Опосредованное влияние на патогенез МВ

B. Indirect impact on CF pathogenesis



В. Модуляция провоспалительных факторов

C. Modulation of proinflammatory factors



Г. Модуляция антибактериальной терапии

D. Modulation of antibacterial treatment

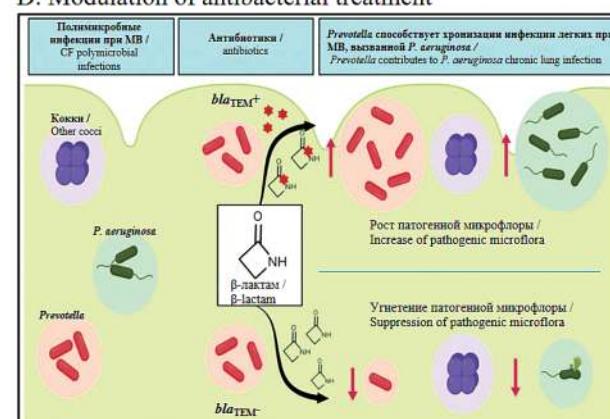


Рис. 1. Механизмы участия микробиоты в патогенезе муковисцидоза (по С. Thornton и соавт. [26]).

Fig. 1. Mechanisms of microbiota involvement in the pathogenesis of cystic fibrosis (adapted from S. Thornton et al. [26]).

прессии таких факторов вирулентности, как пиоцианин и эластаза [22].

В состав микробиоты пациентов с МВ входят бактерии, проявляющие иммуномодулирующие свойства, что напрямую влияет на негативную эволюцию заболевания (рис. 1В/С). Так, в культуре эпителиальных клеток легких человека грамположительные микроКокки *Rothia mucilagenosa* снижают интенсивность воспаления путем ингибирования продукции интерлейкина-8 и активацией сигнального пути NF-кВ [23]. Напротив, периодонтальный грамотрицательный облигатный анаэроб *Prevotella intermedia* способствует прогрессированию заболевания за счет секреции внеклеточных цитотоксинов, вызывающих накопление макрофагов и нейтрофилов в просвете дыхательных путей [24].

Микробиота также влияет на патоморфоз МВ путем модификации терапевтических воздействий (рис. 1, Г/Д). Например, изоляты *Prevotella*, продуцирующие β -лактамазы расширенного спектра (bla_{TEM}^+), *in vitro* защищают от действия β -лактамных антибиотиков патогены, типичные при МВ (*P. aeruginosa*, *S. aureus*) [25].

Вариативность профиля микробиоты также описана у пациентов с легочными обострениями при МВ, при которых ключевая роль отводится анаэробам при параллельном присутствии в мокроте и *P. aeruginosa* [27]. Анаэробы становятся превалирующими видами бактерий в легких при МВ, что подтверждено рядом исследований [28], однако их влияние на патогенез заболевания противоречиво. Например, M. Muhlebach с соавт. [29] обнаружили, что относительное количество анаэробов ассоциировано с более мягкой формой МВ, включая улучшение функции легких. С другой стороны, L. Caverly с соавт. [30] выявили прямую взаимосвязь между повышением количества анаэробов и частотой обострений при МВ. Так как клинически «мягким» легочным обострениям соответствует режим антибактериальной терапии (АБТ) с меньшей анти-анаэробной активностью, различия в компонентах АБТ при разных степенях обострения делают невозможным точное определение роли анаэробов при МВ. У пациентов с мягкой формой МВ старше 25 лет часто наблюдается повышенный уровень анаэробов и разнообразия микробного сообщества (эффект «выжившего» пациента) [30]. *Prevotella* spp. включают большое количество видов с разным патогенным потенциалом и поэтому являются одними из самых частых анаэробов при МВ [26], участвуя в формировании «атакующих» микробных сообществ, моделирующих дыхательные пути.

Анаэробы также являются переносчиками генов устойчивости к антибиотикам (в том числе гены бета-лактамаз), что критично для эффективности терапии у пациентов с МВ [31]. Метаболизм анаэробных бактерий спо-

собствует разрушению муцина и выработке ряда провоспалительных короткоцепочечных жирных кислот (SCFA, short-chain fatty acids), амплифицирующих чрезмерный иммунный ответ, характеризующийся всплеском цитокинов в эпителии бронхиального дерева и рекрутингом нейтрофилов в легкие [32].

Микробиом как биомаркер муковисцидоза

С недавних пор появилась тенденция формировать МВ-специфичные биобанки, аккумулирующие различные типы образцов биоматериала пациентов с МВ. Это позволяет проводить лонгитудинальные (продольные) исследования с целью лучшего понимания фактора микробиоты, влияющей на долговременный прогноз заболевания. Важной целью становится идентификация микробиомных биомаркеров для прогнозирования краткосрочных исходов болезни (обострений) и долгосрочных (снижения функции легких), а также оценка эффективности проводимой терапии. Данный тренд актуален в условиях, когда существующие микробиологические подходы (рутинное исследование бактериальных культур, чувствительности к антибиотикам) слабо коррелируют с исходами заболевания. Так, N. Acosta с соавт. [33] исследовал образцы мокроты у 104 пациентов с МВ с целью оценки корреляции между состоянием микробиоты и прогнозом заболевания. Оказалось, что результаты традиционных микробиологических тестов (в том числе на канонические патогены) слабо коррелировали с клиническими исходами, тогда как расширенное тестирование микробиоты методами NGS позволяет выявить объективные предикторы прогрессирования МВ: снижение альфа-разнообразия, преобладание *Pseudomonas*, снижение уровня *Streptococcus*.

Классическое культивирование известных патогенов при МВ само по себе не дает прямых предположений о роли возбудителей в прогрессировании заболевания, тогда как количественная оценка их соотношений (например, *Pseudomonas* и *Stenotrophomonas*) позволяет построить предиктивную модель течения МВ, показавшую эффективность на практике [34]. Проспективное исследование M. Nelson с соавт. с использованием метагеномного секвенирования показало, что использование антибиотика тобрамицина вызывает изменения в недоминирующих микроорганизмах микробного сообщества, не оказывая заметного влияния на *P. aeruginosa* [35]. Подобные исследования дают надежду на то, что подробное изучение микробиоты с привлечением технологий секвенирования позволит идентифицировать неизвестные до настоящего времени микроорганизмы, вовлеченные в патогенез МВ и выявить потенциальные биомаркеры для персонализации антибактериальной терапии. Однако, внедрение новых методов исследования микробиоты в клиническую

практику имеет ряд ограничений. Это и высокая стоимость по сравнению с классическими микробиологическими подходами, и длительность получения результатов, определяемая в том числе требованием сложной биоинформационической обработки данных.

Экологическая концепция динамики микробиоты при муковисцидозе

Микробиом и в норме, и в патологии является динамичной персонализированной системой, мониторинг которой также требует индивидуального подхода [17]. Первые попытки описать динамику экосистемы легких при МВ были предприняты F. Harrison [36], в которой автор представил пораженный орган как сообщество, в котором происходят процессы ко-инфицирования, межмикробных взаимодействий (синергизм, антагонизм) и микробной эволюции. Далее van der Gast с соавт. [37], используя секвенирование 16S rPHK, развел представление о микробном сообществе как совокупности ядерных (core) и транзитных группировок. D. Conrad с соавт. [38] постулировал существование двух функциональных состояний микробиоты легких: стабильное, персистирующее устойчивое (climax) состояние и вирулентное транзитное состояние, ассоции-

ированное с обострениями (модель CAM – climax-attack model). Так как оба состояния – функциональные по природе, они не обязательно должны таксономически различаться, что согласуется с рядом наблюдений, не выявивших значимые различия в микробиоте между пациентами со стабильным состоянием вне обострений и при обострениях. Однако, в недавнем исследовании S. Widder с соавт. [39] разработали микробиомные дескрипторы для моделирования реорганизации микробных сообществ при обострениях МВ, что позволило выявить два режима дисбиоза с противоположной динамикой и составом сообществ в виде и во время обострений. Необходимо отметить, что это стало нетривиальной задачей из-за поиска закономерностей в массиве данных, раздробленных по причине индивидуального микробного состава для каждого из 880 проанализированных образцов мокроты.

R. Khanolkar с соавт. включили временной фактор в разработанную модель экологической сукцессии полимикробных сообществ в легких при МВ (CFES-модель, cystic fibrosis ecological succession) [27], согласно которой экосистема легких на протяжении жизни пациента последовательно проходит через смены (сукцессии) микробиоты (рис. 2):

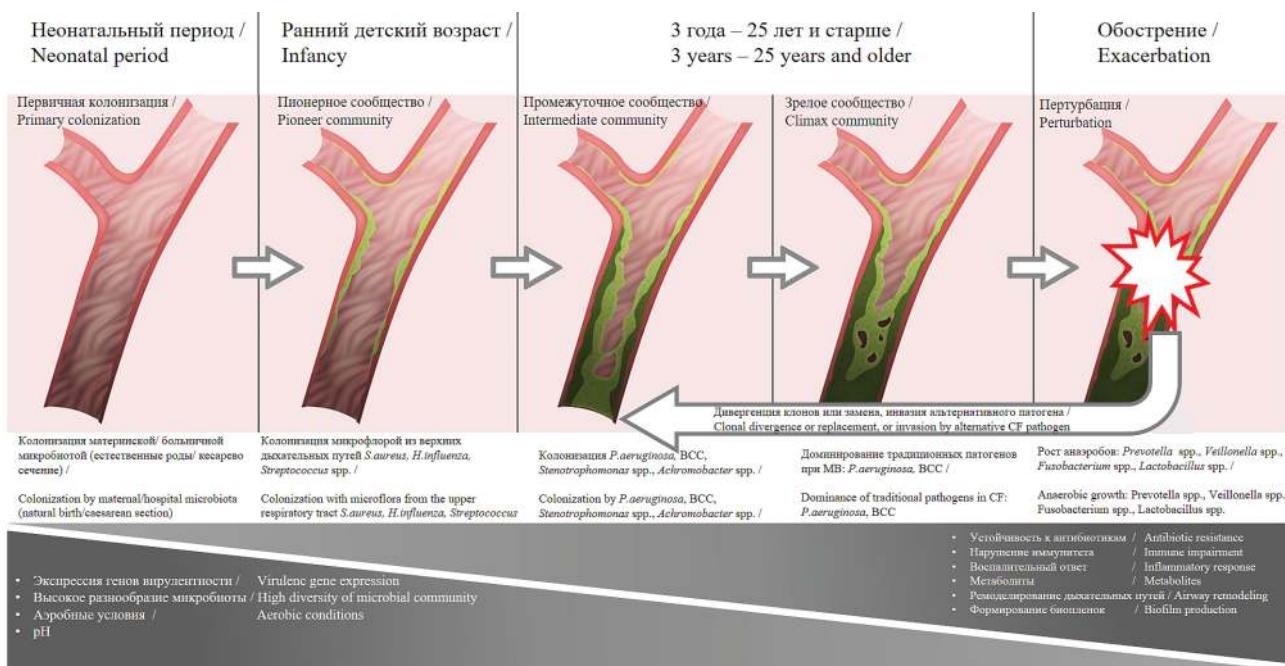


Рис. 2. Этапы сукцессии микробиоты при муковисцидозе от рождения до взрослого состояния пациента. Градиентом выделены основные параметры для каждого из этапов; светлый оттенок – указывает на низкий уровень, темный – на высокий уровень (по R. Khanolkar [27]).

Fig. 2. Stages of microbiota succession in cystic fibrosis from birth to adulthood. The main parameters for each stage are highlighted with a gradient; a light shade indicates a low level, while a dark shade indicates a high level (adapted from R. Khanolkar [27]).

I. Первичная колонизация микрофлорой верхних дыхательных путей, рта, глотки вскоре после рождения: при обычных родах – влагалищной микрофлорой матери, при оперативном родоразрешении – микрофлорой кожи и внутрибольничными микроорганизмами. Уже в первые месяцы после рождения наблюдаются существенные различия между назофарингеальной микрофлорой детей с МВ и здоровых детей, с преобладанием пионерных видов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* у детей с МВ [40]. Ранний паттерн сукцессии также отличается при патологии: сдвиг доминантной флоры от *S. aureus*, *H. influenzae* к стрептококкам и *Moraxella* spp. к 3 месяцу, тогда как у здоровых детей сохраняется доминирование *Moraxella* spp., *Corynebacterium* spp., *H. influenzae* [40]. Хотя драйвер этих различий неизвестен, воспаление в дыхательных путях при МВ обнаруживается даже при отсутствии клинически диагностируемой инфекции. Причиной могут быть недиагностированные возбудители, измененный иммунитет и сниженный мукоклиарный клиренс [41].

Исследования микробиоты дыхательных путей при МВ в раннем детском возрасте P. Jorth с соавт. [42] позволяют сделать вывод о том, что пионерные виды бактерий являются традиционными патогенами при МВ, тогда как анаэробы и таксоны окружающей среды – лишь транзитные контаминации из верхних дыхательных путей;

II. Первичная сукцессия и промежуточное сообщество. К 3-му году жизни серологическое подтверждение наличия интермиттирующей инфекции *P. aeruginosa* обнаруживается у 95% детей с МВ [43]. Источник патогенов – окружающая среда (почва) или горизонтальная трансмиссия между пациентами [44]. Инфицирование *P. aeruginosa*, ВСС (*Burkholderia cepacia* complex) определяют плохой прогноз из-за частых обострений и снижения легочной функции в долгосрочной перспективе [45]. Драйверы данной сукцессии неизвестны, но для ряда микроорганизмов было показано их влияние на колонизацию другими патогенами например, *S. aureus* предрасполагает к инфицированию *P. aeruginosa* за счет метаболической взаимосвязи: *P. aeruginosa* использует лактат, продуцируемый *S. aureus*, но параллельно ингибирует рост стафилококков за счет секвестрации ионов железа и продукции antimикробных субстанций [46].

Структура микробного сообщества меняется также под воздействием микроокружения в легких, которые являются гетерогенным компартментализованным органом с разными уровнями оксигенации и химическим составом среды вследствие постоянной продукции вязкой мокроты и хронической микроаспирации при МВ. Так, области гипоксии и вариабельной кислотности могут становиться нишами с благоприятными условиями для развития анаэробных бактерий. Установлено, что снижение pH среды

и анаэробная ферментация активируют синтез 2,3-бутандиона стрептококками, что защищает их от летального закисления. Эти продукты метаболизируются синегнойной палочкой с продукцией антиоксидантных феназинов, что также защищает бактерии от деструкции [47]. Кроме того, 2,3-бутандион усиливает формирование биопленок *P. aeruginosa*, что снижает эффективность антибиотиков и способствует поддержанию хронического воспаления в дыхательных путях. Анаэробные условия позволяют *P. aeruginosa* формировать макроколонии, успешно противостоящие атакам лейкоцитов и цитотоксическому звену иммунитета [48];

III. Зрелое (climax) сообщество, состоящее из бактериальных «лидеров», захвативших первенство (*P. aeruginosa*, ВСС), развивается постепенно в условиях жесткой конкуренции в гетерогенном и иммуногенном микроокружении дыхательных путей, на основе пионерных видов и промежуточного сообщества, ранее обеспечивших ремоделирование структуры легких. Микроорганизмы-лидеры используют ряд механизмов для обеспечения доминирования, что позволяет вытеснить промежуточные виды. Например, продукция аммония стабилизирует pH и препятствует созданию условий, благоприятных для анаэробов [49]. *P. aeruginosa*, ВСС продуцируют 2-алкил-4(1Н)-хинолоны и феназины, секвестрирующие эссециальные биомолекулы (железо), или используют альтернативные метаболические пути в условиях недостатка кислорода, чем препятствуют дестабилизации сложившегося сообщества лидерных микроорганизмов [47];

IV. Пертурбации сообщества – транзитные феномены, вызывающие значительные изменения в структуре микробного сообщества, которые при МВ соответствуют эпизодам клинического обострения заболевания, циклам антибактериальной терапии, состояния после трансплантации легких. Обострения в течении МВ – неизбежная ситуация, неоднократное повторение которой ведет к необратимым повреждениям структуры легких [50]. Мукозный секрет в просвете дыхательных путей из-за нарушенного транспорта бикарбонатов имеет сниженный pH даже в отсутствии инфицирования [45], что способствует росту кислотоустойчивых микроорганизмов (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Veillonella*, *Rothia*, *Granulicatella*), метаболизм которых поддерживает низкий pH в микроокружении по механизму положительной обратной связи [49]. Далее наблюдается рост анаэробных бактерий и нарушение композиции сложившегося к моменту обострения климаксового сообщества.

Экологическая теория существования микробных сообществ предсказывает, что устойчивость сообщества к пертурбациям тем выше, чем больше видов его формирует. Богатый микробный состав увеличивает функци-

нальный потенциал сообщества к нивелированию воздействий внешней среды, чем предотвращает устойчивую инвазию конкурентных видов [27]. Анализ мокроты и БАЛ пациентов с МВ в сравнении со здоровыми контролем показывает зависимое от возраста снижение разнообразия микробиоты, часто сопровождающееся закреплением доминантных таксонов (составляющих >50% относительного разнообразия) [17]. Таким образом, с возрастом устойчивость обедненной микробиоты к пертурбациям снижается, что способствует увеличению частоты легочных обострений [39];

V. Вторичная сукцессия – процесс возвращения к стабильному состоянию, сопровождающийся экспансией выживших представителей микробиоты в освободившихся экологических нишах (например, после курса АБТ) и существенным обновлением клonalных линий. Так, после снятия антибиотиками эпизода обострения, микробиота будет включать те же патогены, что и в климаксовом сообществе (до пертурбации), но доминировать будут клонны с высоким уровнем антибиотикорезистентности [45]. Метастабильное состояние микробиоты во время пертурбации создает кратковременное окно возможностей для интродукции сторонних микроорганизмов, но, как правило, к этому времени ремоделированные дыхательные пути не являются благоприятной средой для их развития, и они быстро вытесняются резидентами предыдущей версии сообщества. Таким образом, этапный процесс экологической сукцессии позволяет объяснить циклическую природу легочных обострений при МВ.

Влияние таргетной терапии на микробиоту и патоморфоз муковисцидоза

Последние годы ознаменовались стремительным прогрессом в таргетной патогенетической терапии модуляторами функции белка CFTR – низкомолекулярными веществами, корректирующими молекулярные дефекты [51]. Исторически первый модулятор ивакафтор был одобрен для лечения пациентов с редкой мутацией G551D, относящейся к III классу, при которой белок синтезируется и экспрессируется в обычных количествах, но не осуществляет транспортную функцию. Ивакафтор является потенциатором, увеличивающим частоту открытия канала CFTR и ионную проводимость [52]. Однако, данный препарат подходит лишь примерно 5% пациентов с МВ, у которых наблюдается существенное улучшение функции легких и снижение частоты обострений, что подтверждается снижением значений потового теста, позволяющего напрямую оценивать анионную транспортную активность хлорного канала CFTR, и поэтому являющегося золотым стандартом в диагностике МВ. Внедрение ивакафтора в клиническую практику стало определенной

точкой отсчета для оценки эффективности последующих модуляторов функции белка CFTR.

Разработка следующего поколения таргетных препаратов при МВ была направлена на самую большую когорту пациентов, несущих частую мутацию F508del (дeлецию аминокислоты фенилаланина в 508 позиции белка, затрагивающую активный центр белка и снижающую его транспортную функцию). Данная мутация встречается по меньшей мере у 90% пациентов с МВ, причем половина из них являются гомозиготами [53]. Идентификация фармсубстанций, корректирующих негативный эффект F508del оказалась нетривиальной задачей, так как мутация нарушает нормальный фолдинг белка в эндоплазматической сети клетки, что ведет к деструкции большей части протеина еще до этапа встраивания в апикальную мембрану.

Комбинации модуляторов (люмакафтор-ивакафтор, тезакафтор-ивакафтор) демонстрировали *in vitro* эффективное восстановление активности белка CFTR, но лишь умеренные клинические изменения у пациентов с МВ, и таким образом, не нашли дальнейшего применения. Однако, комбинация трех препаратов (элексакафтор-тезакафтор-ивакафтор, ETI) оказалась весьма эффективной в клинических испытаниях у пациентов с мутацией F508del [54]. Механизм эффективности таргетной терапии комплексный и включает, помимо непосредственно корректирующего/потенцирующего влияния на хлорный канал CFTR, также антимикробное действие хинолонового кольца в молекуле ивакафтора (ингибиция бактериальной ДНК-гиразы и топоизомеразы IV) и улучшение мукоцилиарного клиренса за счет снижения вязкости мокроты [55].

У пациентов с МВ, получающих тройную таргетную терапию, было отмечено повышение разнообразия микробиоты, преимущественно включающих виды, характерные для здоровых людей (*Rothia*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Prevotella*) и заметное снижение бактериальной нагрузки специфичными для МВ патогенами – например, синегнойной палочкой [56]. Отрицательные результаты культивирования *P. aeruginosa* в течение первого года таргетной терапии наблюдались у 36–45% пациентов [57]. Пациенты с хронической инфекцией *P. aeruginosa*, *S. aureus* труднее избавлялись от этих патогенов при сравнении с пациентами с интермиттирующей инфекцией. В случае инфицирования метициллин-устойчивым *S. aureus* (MRSA) данные об эффективности таргетной терапии противоречивы: несмотря на терапию, *S. aureus* оставался доминирующим патогеном в когорте пациентов (детей) с сохранной функцией легких [57]. M. Pust с соавт. [58] выявили наличие *P. aeruginosa* в легких здоровых детей, что не требовало лечения.

Данные регистров пациентов с МВ показывают значительное уменьшение (до 76%) частоты обострений при использовании таргетной терапии [59]. A. Miller с соавт. [60] наблюдали радикальное снижение частоты госпитализаций (включая кислородную поддержку и неинвазивную вентиляцию легких), курсов антибактериальной терапии уже в первые недели лечения. Стертая клиническая картина эпизодов обострения, не соответствующая четким критериям назначения антибактериальной терапии, относится к проявлениям патоморфоза МВ, что требует внесения корректировок в список показаний для антибактериальной терапии у пациентов с МВ.

Заключение

Патоморфоз муковисцидоза, наблюдаемый последнее десятилетие, является примером успеха совместных усилий научного и клинического сообщества в расшифровке этиологии и патогенеза прежде фатальной патологии, которая в настоящее время трансформируется в контролируемое заболевание с нормальной продолжительностью и качеством жизни для пациентов. Главный вывод из имеющихся данных по использованию таргетной терапии при муковисцидозе – целесообразно начинать применение таргетных препаратов как можно раньше, до этапа хронизации инфекции. Поэтому наиболее эффективной таргетной терапия становится именно у детей в раннем возрасте, на этапах отсутствия инфекционного компонента или интермиттирующей инфекции микробными патогенами, доминирующими при МВ.

Более полное понимание экосистемы микробиоты при МВ требует проспективных исследований микробиома, метагенома, метатранскриптома и метаболома для подробного описания разнообразия и динамики. Серьезным ограничением для всех моделей микробиоты при МВ является недостаточное представление о роли организма хозяина (человека) в экологии дыхательной системы, включая локальные иммуногенные, структурные, физико-химические изменения, влияющие на обеспеченность сообщества нутриентами и субстратами. С дальнейшим развитием персонализированной медицины, исследование специфичного для каждого пациента профиля микробиоты становится важным в контексте повышения эффективности лечения обострений и решения проблемы лекарственной устойчивости.

Литература

(пп. 1–50; 52; 54–60 см. References)

51. Куцев С.И., Ижевская В.Л., Кондратьева Е.И. Таргетная терапия при муковисцидозе. *Пульмонология*. 2021; 31(2): 226–236. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2021-31-2-226-236>

53. Регистр пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации. 2022 г. Под редакцией А.Ю. Воронкова, Е.Л. Амелина, Н.Ю. Каширская, Е.И. Кондратьева, С.А. Красовский, М.А. Станинова, Н.А. Ильинкова, В.В. Чикунов. М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2024, 68 с. https://mukoviscidoz.org/doc/registr/_Register_2022.pdf

References

1. Shteinberg M., Haq I.J., Polineni D., Davies J.C. Cystic fibrosis. *Lancet*. 2021; 397 (10290): 2195–2211. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32542-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32542-3)
2. Bergeron C., Cantin A.M. New therapies to correct the cystic fibrosis basic defect. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(12): 6193. <https://doi.org/10.3390/ijms22126193>
3. Huang E.N., Quach H., Lee J.A., Dierolf J., Moraes T.J., Wong A.P. A developmental role of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in cystic fibrosis lung disease pathogenesis. *Front Cell Dev Biol*. 2021; 11 (9):742891. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.742891>
4. McCague A.F., Raraigh K.S., Pellicore M.J., Davis-Marcisak E.F., Evans T.A., Han S.T., et al. Correlating cystic fibrosis transmembrane conductance regulator function with clinical features to inform precision treatment of cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2019; 199(9): 1116–1126. <https://doi.org/10.1164/rccm.201901-0145OC>
5. Balazs A., Mall M.A. Mucus obstruction and inflammation in early cystic fibrosis lung disease: Emerging role of the IL-1 signaling pathway. *Pediatr Pulmonol*. 2019; 54(3): S5–S12. <https://doi.org/10.1002/ppul.24462>
6. Esther C.R. Jr., Muhlebach M.S., Ehre C., Hill D.B., Wolfgang M.C., Kesimer M., et al. Mucus accumulation in the lungs precedes structural changes and infection in children with cystic fibrosis. *Sci Transl Med*. 2019; 11(486): eaav3488. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aav3488>
7. Rosen B.H., Chanson M., Gawenis L.R., Liu J., Sofoluwe A., Zoso A., et al. Animal and model systems for studying cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2018; 17(2S): S28–S34. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2017.09.001>
8. Mall M.A., Danahay H., Boucher R.C. Emerging concepts and therapies for mucoobstructive lung disease. *Ann Am Thorac Soc*. 2018; 15(3): S216–S226. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201806-368AW>
9. Vaillancourt M., Aguilar D., Fernandes S.E., Jorth P.A. A chronic *Pseudomonas aeruginosa* mouse lung infection modeling the pathophysiology and inflammation of human cystic fibrosis. *bioRxiv [Preprint]*. 2024; 2024.10.07.: 617039. <https://doi.org/10.1101/2024.10.07.617039>
10. Rosenberg G., Riquelme S., Prince A., Avraham R. Immunometabolic crosstalk during bacterial infection. *Nat Microbiol*. 2022; 7(4): 497–507. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01080-5>
11. Cao L., Shcherbin E., Mohimani H. A metabolome- and metagenome-wide association network reveals microbial natural products and microbial biotransformation products from the human microbiota. *mSystems*. 2019; 4(4): e00387-19. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00387-19>
12. Dickson R.P., Erb-Downward J.R., Martinez F.J., Huffnagle G.B. The microbiome and the respiratory tract. *Annu Rev Physiol*. 2016; 78: 481–504. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021115-105238>
13. Page L.K., Staples K.J., Spalluto C.M., Watson A., Wilkinson T.M.A. Influence of hypoxia on the epithelial-pathogen interactions in the lung: implications for respiratory disease. *Front Immunol*. 2021; 24(12): 653969. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.653969>

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.90-100

14. Lussac-Sorton F., Charpentier É., Imbert S., Lefranc M., Bui S., Fayon M., et al. The gut-lung axis in the CFTR modulator era. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023; 13: 1271117. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1271117>
15. Cuthbertson L., Walker A.W., Oliver A.E., Rogers G.B., Rivett D.W., Hampton T.H., et al. Lung function and microbiota diversity in cystic fibrosis. *Microbiome.* 2020; 8(1): 45. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00810-3>
16. Scialo F., Vitale M., D'Agnano V., Mariniello D.F., Perrotta F., Castaldo A., et al. Lung microbiome as a treatable trait in chronic respiratory disorders. *Lung.* 2023; 201(5): 455-466. <https://doi.org/10.1007/s00408-023-00645-3>
17. Zemanick E.T., Wagner B.D., Robertson C.E., Ahrens R.C., Chmiel J.F., Clancy J.P., et al. Airway microbiota across age and disease spectrum in cystic fibrosis. *Eur Respir J.* 2017; 50(5): 1700832. <https://doi.org/10.1183/13993003.00832-2017>
18. Yi X., Gao J., Wang Z. The human lung microbiome-A hidden link between microbes and human health and diseases. *Imeta.* 2022; 1(3): e33. <https://doi.org/10.1002/imt2.33>
19. Keravec M., Mounier J., Guilloux C.A., Fangous M.S., Mondot S., Vallet S., et al. Porphyromonas, a potential predictive biomarker of *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection in cystic fibrosis. *BMJ Open Respir Res.* 2019; 6(1): e000374. <https://doi.org/10.1136/bmjjresp-2018-000374>
20. Oliveira M., Cunha E., Tavares L., Serrano I. *P. aeruginosa* interactions with other microbes in biofilms during co-infection. *AIMS Microbiol.* 2023; 9(4): 612-646. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2023032>
21. Tony-Odigie A., Wilke L., Boutin S., Dalpke A.H., Yi B. Commensal bacteria in the cystic fibrosis airway microbiome reduce *P. aeruginosa* induced inflammation. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022; 12: 824101. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.824101>
22. Dong J., Li W., Wang Q., Chen J., Zu Y., Zhou X., Guo Q. Relationships between oral microecosystem and respiratory diseases. *Front Mol Biosci.* 2022; 8: 718222. <https://doi.org/10.3389/fmolt.2021.718222>
23. Rigauts C., Aizawa J., Taylor S.L., Rogers G.B., Govaerts M., Cos P., et al. *Rothia mucilaginosa* is an anti-inflammatory bacterium in the respiratory tract of patients with chronic lung disease. *Eur Respir J.* 2022; 59(5): 2101293. <https://doi.org/10.1183/13993003.01293-2021>
24. Zhang Z., Wen S., Liu J., Ouyang Y., Su Z., Chen D., et al. Advances in the relationship between periodontopathogens and respiratory diseases (Review). *Mol Med Rep.* 2024; 29(3): 42. <https://doi.org/10.3892/mmr.2024.13166>
25. Reece E., Bettio P.H.A., Renwick J. Polymicrobial interactions in the cystic fibrosis airway microbiome impact the antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics (Basel).* 2021; 10(7): 827. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10070827>
26. Thornton C.S., Acosta N., Surette M.G., Parkins M.D. Exploring the cystic fibrosis lung microbiome: making the most of a sticky situation. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2022; 11(2): S13-S22. <https://doi.org/10.1093/jpids/piac036>
27. Khanolkar R.A., Clark S.T., Wang P.W., Hwang D.M., Yau Y.C.W., Waters V.J., et al. Ecological succession of polymicrobial communities in the cystic fibrosis airways. *mSystems.* 2020; 5(6): e00809-20. <https://doi.org/10.1126/mSystems.00809-20>
28. Thornton C.S., Surette M.G. Potential contributions of anaerobes in cystic fibrosis airways. *J Clin Microbiol.* 2021; 59(3): e01813-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.01813-19>
29. Muhlebach M.S., Hatch J.E., Einarsson G.G., McGrath S.J., Gilipin D.F., Lavelle G., et al. Anaerobic bacteria cultured from cystic fibrosis airways correlate to milder disease: a multisite study. *Eur Respir J.* 2018; 52(1): 1800242. <https://doi.org/10.1183/13993003.00242-2018>
30. Caverly L.J., LiPuma J.J. Good cop, bad cop: anaerobes in cystic fibrosis airways. *Eur Respir J.* 2018; 52(1): 1801146. <https://doi.org/10.1183/13993003.01146-2018>
31. Lamoureux C., Guilloux C.A., Courteboeuf E., Gouriou S., Beauruelle C., Héry-Arnaud G. *Prevotella melaninogenica*, a sentinel species of antibiotic resistance in cystic fibrosis respiratory niche? *Microorganisms.* 2021; 9(6): 1275. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061275>
32. Verma A., Bhagchandani T., Rai A., Nikita, Sardarni U.K., Bhavesh N.S., et al. Short-chain fatty acid (scfa) as a connecting link between microbiota and gut-lung axis-a potential therapeutic intervention to improve lung health. *ACS Omega.* 2024; 9(13): 14648-14671. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c05846>
33. Acosta N., Heirali A., Somayaji R., Surette M.G., Workentine M.L., Sibley C.D., et al. Sputum microbiota is predictive of long-term clinical outcomes in young adults with cystic fibrosis. *Thorax.* 2018; 73(11): 1016-1025. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2018-211510>
34. Zhao C.Y., Hao Y., Wang Y., Varga J.J., Stecenko A.A., Goldberg J.B., et al. Microbiome data enhances predictive models of lung function in people with cystic fibrosis. *J Infect Dis.* 2021; 223(12 Suppl 2): S246-S256. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa655>
35. Nelson M.T., Wolter D.J., Eng A., Weiss E.J., Vo A.T., Brittnacher M.J., et al. Maintenance tobramycin primarily affects untargeted bacteria in the CF sputum microbiome. *Thorax.* 2020; 75(9): 780-790. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2019-214187>
36. Harrison F. Microbial ecology of the cystic fibrosis lung. *Microbiology (Reading).* 2007; 153(Pt 4): 917-923. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2006/004077-0>
37. van der Gast C.J., Walker A.W., Stressmann F.A., Rogers G.B., Scott P., Daniels T.W., et al. Partitioning core and satellite taxa from within cystic fibrosis lung bacterial communities. *ISME J.* 2011; 5(5): 780-91. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.175>
38. Conrad D., Haynes M., Salamon P., Rainey P.B., Youle M., Rohwer F. Cystic fibrosis therapy: a community ecology perspective. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2013; 48(2): 150-6. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2012-0059PS>
39. Widder S., Carmody L.A., Opron K., Kalikin L.M., Caverly L.J., LiPuma J.J. Microbial community organization designates distinct pulmonary exacerbation types and predicts treatment outcome in cystic fibrosis. *Nat Commun.* 2024; 15(1): 4889. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-49150-y>
40. Campbell S., Gerasimidis K., Milling S., Dicker A.J., Hansen R., Langley R.J. The lower airway microbiome in paediatric health and chronic disease. *Paediatr Respir Rev.* 2024; S1526-0542(24)00017-4. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2024.02.001>
41. Vitiello A., Blasi F., Sabbatucci M., Zovi A., Miele F., Ponzo A., et al. The impact of antimicrobial resistance in cystic fibrosis. *J Clin Med.* 2024; 13(6): 1711. <https://doi.org/10.3390/jcm13061711>
42. Jorth P., Ehsan Z., Rezayat A., Caldwell E., Pope C., Brengton J.J., et al. Direct lung sampling indicates that established pathogens dominate early infections in children with cystic fibrosis. *Cell Rep.* 2019; 27(4): 1190-1204.e3. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.03.086>
43. Llanos A., Achard P., Bousquet J., Lozano C., Zalacain M., Sable C., et al. Higher levels of *Pseudomonas aeruginosa* LasB elastase expression are associated with early-stage infection in cystic fibrosis patients. *Sci Rep.* 2023; 13(1): 14208. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-41333-9>

44. Mueller R. The impact of transmissible microbes: how the cystic fibrosis community mobilized against *cepacia*. *Perspect Biol Med.* 2023; 66(1): 89-106. <https://doi.org/10.1353/pbm.2023.0005>
45. Langton Hewer S.C., Smith S., Rowbotham N.J., Yule A., Smyth A.R. Antibiotic strategies for eradicating *Pseudomonas aeruginosa* in people with cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2023; 6(6): CD004197. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004197.pub6>
46. Biswas L., Götz F. Molecular mechanisms of *Staphylococcus* and *Pseudomonas* interactions in cystic fibrosis. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022; 11: 824042. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.824042>
47. Whiteson K.L., Meinardi S., Lim Y.W., Schmieder R., Maughan H., Quinn R., et al. Breath gas metabolites and bacterial metagenomes from cystic fibrosis airways indicate active pH neutral 2,3-butanedione fermentation. *ISME J.* 2014; 8(6): 1247-58. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.229>
48. Hall K.M., Pursell Z.F., Morici L.A. The role of the *Pseudomonas aeruginosa* hypermutator phenotype on the shift from acute to chronic virulence during respiratory infection. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022; 12: 943346. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.943346>
49. Quinn R.A., Whiteson K., Lim Y.W., Zhao J., Conrad D., LiPuma J.J., et al. Ecological networking of cystic fibrosis lung infections. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 2016; 2: 4. <https://doi.org/10.1038/s41522-016-0002-1>
50. Almulhem M., Ward C., Haq I., Gray R.D., Brodlie M. Definitions of pulmonary exacerbation in people with cystic fibrosis: a scoping review. *BMJ Open Respir Res.* 2024; 11(1): e002456. <https://doi.org/10.1136/bmjresp-2024-002456>
51. Kutsev S.I., Izhevskaya, V.L., Kondratyeva E.I. Target therapy of cystic fibrosis. *Pulmonologiya.* 2021; 31(2): 226-236. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2021-31-2-226-236> (in Russian)
52. Mall M.A., Burgel P.R., Castellani C., Davies J.C., Salathe M., Taylor-Cousar J.L. Cystic fibrosis. *Nat Rev Dis Primers.* 2024; 10(1): 53. <https://doi.org/10.1038/s41572-024-00538-6>
53. *Registry of cystic fibrosis patients in Russian Federation. 2022 yr. [Registr patsientov s mukoviscidozom v Rossiyskoi Federatsii. 2022 g.]*. Editors: A.Yu. Voronkova, E.L. Amelina, N.Yu. Kashirskaya, E.I. Kondratyeva, S.A. Krasovskiy, M.A. Starinova, et al. M.: "Medpractika-M" 2024; 68 p. https://mukoviscidoz.org/doc/registr/_Registre_2022.pdf (in Russian)
54. Heneghan M., Southern K.W., Murphy J., Sinha I.P., Nevitt S.J. Corrector therapies (with or without potentiaters) for people with cystic fibrosis with class II CFTR gene variants (most commonly F508del). *Cochrane Database Syst Rev.* 2023; 11(11): CD010966. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010966.pub4>
55. Morrison C.B., Shaffer K.M., Araba K.C., Markovetz M.R., Wykoff J.A., Quinney N.L., et al. Treatment of cystic fibrosis airway cells with CFTR modulators reverses aberrant mucus properties via hydration. *Eur Respir J.* 2022; 59(2): 2100185. <https://doi.org/10.1183/13993003.00185-2021>
56. Aalbers B.L., Mohamed Hoesein F.A.A., Hofland R.W., Bronsved I., Kruiswijk M.A., Schotman S., et al. Radiological and long-term clinical response to elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor in people with cystic fibrosis with advanced lung disease. *Pediatr. Pulmonol.* 2023; 58(8): 2317-2322. <https://doi.org/10.1002/ppul.26486>
57. Dittrich A.M., Sieber S., Naehrlich L., Burkhardt M., Hafkemeyer S., Tümmeler B. Registry Working Group of the German CF Registry. Use of elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor leads to changes in detection frequencies of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* dependent on age and lung function in people with cystic fibrosis. *Int. J. Infect. Dis.* 2024; 139:124-131. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2023.11.013>
58. Pust M.M., Wiehlmann L., Davenport C., Rudolf I., Dittrich A.M., Tümmeler B. The human respiratory tract microbial community structures in healthy and cystic fibrosis infants. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 2020; 6(1): 61. <https://doi.org/10.1038/s41522-020-00171-7>
59. Bower J.K., Volkova N., Ahluwalia N., Sahota G., Xuan F., Chin A., et al. Real-world safety and effectiveness of elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor in people with cystic fibrosis: Interim results of a long-term registry-based study. *J. Cyst. Fibros.* 2023; 22(4): 730-737. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2023.03.002>
60. Miller A.C., Harris L.M., Cavanaugh J.E., Abou Alaiwa M., Stoltz D.A., Hornick D.B., et al. The rapid reduction of infection-related visits and antibiotic use among people with cystic fibrosis after starting elexacaftor-tezacaftor-ivacaftor. *Clin. Infect. Dis.* 2022; 75(7): 1115-1122. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac117>

Сведения об авторах:

Донников Максим Юрьевич, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. научно-образовательного центра медицинского института БУ ВО «Сургутский государственный университет»; e-mail: donnikov@gmail.com;

Морозкина Анна Владимировна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. научно-образовательного центра медицинского института БУ ВО «Сургутский государственный университет»;

Коваленко Людмила Васильевна, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патофизиологии и общей патологии, директор медицинского института БУ ВО «Сургутский государственный университет».

Рыкунова А.Я., Зверев Я.Ф.

Некоторые аспекты патофизиологии ревматоидного артрита

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, 656038, Барнаул, Россия, пр. Ленина, д. 40

Обзор посвящен анализу основных механизмов развития ревматоидного артрита (РА). Хронический воспалительный процесс и локальная гипоксия синовиальных тканей нуждаются в повышенном поступлении кислорода, что обуславливает необходимость образования новых капилляров. Активируется ряд проангиогенных факторов, в том числе фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), молекул адгезии, провоспалительных цитокинов, хемокинов, матриксных металлопротеиназ. Под их влиянием происходит пролиферация эндотелиальных клеток, формирование тубулярных структур, связанных с базальной мембраной, и образование новой прimitивной сосудистой сети. Важная роль при РА принадлежит митохондриальной дисфункции (МД). Митохондрии в очаге воспаления обеспечивают клетку повышенным образованием энергии и активных форм кислорода (АФК). В условиях РА гипоксия, повышенная частота мутаций митохондриальной ДНК (мтДНК) и избыточная продукция АФК, по всей вероятности, инициируют МД. Это приводит к активации аутофагии, образованию инфламм-масомы NLRP3 и выходу аберрантной мтДНК в цитозоль через пору, открывающуюся в наружной мембране митохондрий. Выходящие митохондриальные структуры воспринимаются как молекулярные паттерны, связанные с повреждением (DAMP), что активирует аутоиммунный воспалительный процесс. Большое значение в патогенезе РА имеет активация свободно-радикального окисления. При развивающейся гипоксии в клетках воспалительного очага происходит сдвиг баланса оксидантных и антиоксидантных факторов в сторону чрезмерного образования АФК, что приводит к активации Т- и В-лимфоцитов, макрофагов, способствует формированию внеклеточных ловушек нейтрофилов. Все это существенно стимулирует течение аутоиммунного воспаления. Стимуляция свободными радикалами функциональной активности фибробластоподобных синовиоцитов, усиливает выработку ими провоспалительных цитокинов, повышает инвазивность и задерживает апоптоз этих клеток. Кроме того, чрезмерная активация радикального окисления вносит вклад в повреждение суставного хряща и эрозию кости посредством активации ферментов, разрушающих хрящ и внеклеточный костный матрикс. Возникающий дисбаланс между остеобластами и остеокластами в пользу последних индуцирует процесс костной резекции.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; ангиогенез; митохондриальная дисфункция; свободно-радикальное окисление

Для цитирования: Рыкунова А.Я., Зверев Я.Ф. Некоторые аспекты патофизиологии ревматоидного артрита.

Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2025; 69(3): 101–112.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.101-112

Участие авторов: концепция, написание текста статьи – Рыкунова А.Я.; редактирование, критический анализ – Зверев Я.Ф. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Рыкунова Анна Яковлевна, e-mail: zveranna@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 30.09.2024

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Rykunova A.Ya., Zverev Ya.F.

Some aspects of the pathophysiology of rheumatoid arthritis

Altai State Medical University, 40 Lenin Ave., Barnaul, 656038, Russian Federation

The review is devoted to the analysis of the main mechanisms of development of rheumatoid arthritis (RA). Chronic inflammatory process and local hypoxia of synovial tissues require an increased supply of oxygen, which necessitates the formation of new capillaries. A number of proangiogenic factors are activated, including vascular endothelial growth factor (VEGF), adhesion molecules, proinflammatory cytokines, chemokines, and matrix metalloproteinases. Under their influence, the proliferation of endothelial cells occurs, the formation of tubular structures associated with the basement membrane, and the formation of a new primitive vascular network. Mitochondrial dysfunction (MD) plays an important role in RA. Mitochondria at the site of inflammation provide the cell with increased production of energy and reactive oxygen species (ROS). In RA conditions, hypoxia, increased mitochondrial DNA (mtDNA) mutation rates, and excess ROS production are likely to initiate MD. This leads to the activation of autophagy, the formation of the NLRP3 inflammasome, and the release of aberrant mtDNA into the cytosol through a pore that opens in the outer mitochondrial membrane. Emitted mitochondrial structures are sensed as damage-associated molecular patterns (DAMPs), which activate an autoimmune inflammatory process. Activation of free radical oxidation is of great importance in the pathogenesis of RA. With developing hypoxia in the cells of the inflammatory focus, the balance of oxidative and antioxidant factors shifts towards excessive formation of ROS, which leads to the activation of T- and B-lymphocytes, macrophages, and promotes the formation of extracellular traps of neutrophils. All this significantly stimulates the course of autoimmune inflammation. Stimulation of the functional activity of fibroblast-like synoviocytes by free radicals enhances their production of pro-inflammatory cytokines, increases invasiveness and delays the apoptosis of these cells. In addition, excessive activation of radical oxidation contributes to articular cartilage damage and bone erosion through the activation of enzymes that degrade cartilage and extracellular bone matrix. The resulting imbalance between osteoblasts and osteoclasts in favor of the latter induces the process of bone resection.

Keywords: rheumatoid arthritis; angiogenesis; mitochondrial dysfunction; free radical oxidation

For citation: Rykunova A.Ya., Zverev Ya.F. Some aspects of the pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(3): 101–112. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.101-112

Author's contribution: concept, writing the text – Rykunova A.Ya.; editing the text, critical analysis – Zverev Ya.F. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: Rykunova Anna Yakovlevna, e-mail: zveranna@mail.ru

Information about the authors:Rykunova A.Ya., <https://orcid.org/0000-0002-5889-7071>

Financing. The study had no sponsorship.

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

Received 30.09.2024

Accepted 25.08. 2025

Published 30.09.2025

Ангиогенез при ревматоидном артрите

Как установлено, начинающийся при ревматоидном артрите (РА) воспалительный процесс в суставах проекает на фоне локальной гипоксии. Увеличенная потребность в поступлении кислорода и питательных веществ в связи с усилением клеточной миграции и пролиферативных процессов в очаге воспаления, с одной стороны, индуцирует гипоксию, а с другой – обуславливает необходимость образования новых капилляров. В результате происходит локальный сдвиг равновесия в сторону преобладания ангиогенных факторов над антиангиогенными, эндотелиальные клетки (ЭК) переходят из обычного дремлющего состояния в активное, что

является триггером феномена, называемого «включение ангиогенеза» [1].

Ангиогенез, как образование новых капилляров из ранее существовавших, является комплексным многофакторным процессом, играющим ключевую роль в патогенезе РА. Он включает ряд последовательных стадий: 1. Активация эндотелиоцитов с протеолитическим разрушением базальной мембраны и межклеточного матрикса; 2. Миграция и прикрепление ЭК; 3. Пролиферация ЭК; 4. Формирование тубулярных структур с базальной мембраной, которые являются новыми кровеносными сосудами прimitивной капиллярной сети [2–4].

Среди многочисленных эндогенных соединений, участвующих в индукции неоваскуляризации, выделя-

ют следующие: фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF); трансформирующий фактор роста (TGF), фактор тромбоцитарного происхождения (PDGF), аngиопоэтины (ANG), хемокины, провоспалительные цитокины, матриксные металлопротеиназы (ММП), интегрины, протеазы, эфрины. Активируются синтез простагландинов, образование оксида азота (NO), ряд внутриклеточных сигнальных путей, таких как Notch, Wnt, PI3K-Akt и другие [3, 5, 6]. Перечисленные факторы и соединения совместно обеспечивают процесс образования новых кровеносных сосудов по ходу инициирования сложного процесса неоваскуляризации и его регулирования. Важно отметить, что многие из этих проангиогенных факторов активируются в ответ на развивающуюся гипоксию благодаря стимулирующему воздействию HIF-1 α [6, 7].

В начальной стадии РА, когда формируется воспалительная реакция, происходит усиленная миграция из кровеносного русла в синовиум миелоидных и лимфоидных клеток. Ключевая роль здесь принадлежит моноцитам, которые конвертируются в основном в M1 макрофаги в синовиальной жидкости. Макрофаги вступают в контакт с синовиальными фибробластами (СФ), покрывающими выстилающий слой синовиальной мембранны, что обуславливает обильную секрецию таких факторов роста, как VEGF и FNF, – основных регуляторов ангиогенеза. Этому же способствует и гипоксия, поскольку установлено, что HIF-1 α прямо и косвенно стимулирует экспрессию VEGF. Одновременно активированные макрофаги и СФ секретируют большое число провоспалительных цитокинов, по-видимому, также тесно связанных с ангиогенезом. Макрофаги и СФ стимулируют соответствующие рецепторы на мембранах ЭК, активируя их. Это ключевое в ходе ангиогенеза взаимодействие и обеспечивает образование новых капилляров. Такому взаимодействию способствуют интегрины (в основном $\beta 1$ и $\beta 3$), экспрессированные на мембранах моноцитов, а также селектины и молекулы адгезии VCAM-1, ICAM-1, ICAM-3, JAM, секрецииемые ЭК. В результате ЭК активируются, что и определяет дальнейшую динамику ангиогенеза [3, 5, 8]. Очевидно, что определенную роль в активации неоваскуляризации играют хемокины семейств СХС, СС, С, СХ3С, концентрация которых существенно повышена в синовиальной жидкости пациентов с РА. Их молекулы, кроме обеспечения хемотаксиса лейкоцитов и воспаления, способствуют образованию новых сосудов.

Цитокин VEGF-A секretируется макрофагами, СФ, полиморфноядерными лейкоцитами, лимфоцитами, остеобластами (ОБ) и предназначен исключительно для воздействия на ЭК. Показано, что у пациентов с РА концентрация VEGF в крови существенно превышает контроль-

ные значения [9, 10]. Взаимодействуя со специфическими мембранными рецепторами, VEGF активирует ЭК. В результате стимулируется пролиферация этих клеток, экспрессия тканевых факторов и разрушение плотных межклеточных контактов, что приводит к повышению сосудистой проницаемости. Затем, благодаря протеолитическому эффекту активированных ММП, происходит расплавление базальной мембранны капилляров с выходом ЭК и образованием трубок, которые выполняют функцию зарождающихся сосудов. Образующиеся трубы составляют основу новой сосудистой сети, которая регулируется PDGF и ангиопоэтинами, усиливающими рекрутирование перицитов и образование новой базальной мембранны.

Одновременно в ходе ангиогенеза при РА активируется целый ряд внутриклеточных сигнальных путей. Среди них важный вклад в формирование и регулирование новых сосудов вносит Notch, хотя точная роль биохимического каскада, инициируемого этим трансмембранным белком, как, впрочем, и других сигнальных путей в процессе неоваскуляризации при РА, остается во многом непонятной [11]. Например, большинство сведений относительно действия каскада Notch отмечает его стимулирующее влияние на процесс неоваскуляризации за счет активации фактора HIF-1 α и фактора роста VEGF-A. Показана прямая связь между низким уровнем pO_2 , увеличением HIF-1 α в синовиальной жидкости и повышенным содержанием компонентов Notch-каскада. Ингибирование HIF-1 α приводило к связыванию не только HIF-1 α , но и Notch [12, 13]. В то же время существует точка зрения о наличии обратной связи между действием VEGF и активностью DLL-4, эндогенного активирующего лиганда Notch, что обусловило предотвращение избыточного ангиогенеза, индуцируемого фактором роста сосудов у мышей с инактивацией гена, кодирующего DLL-4 [11]. Это может быть обусловлено тем, что рецепторы и компоненты семейства Notch обеспечивают функционирование не всех эндотелиоцитов, а их экспрессия в ведущих ЭК ("tip cells"), в основном обеспечивающих ангиогенез, практически отсутствует [4].

Отметим также, что сосуды, образующиеся при РА в результате столь интенсивного ангиогенеза, по-видимому, не являются полноценными. Формируется значительное число незрелых сосудов, не имеющих достаточного количества перицитов. Установлено, что в отличие от здоровых лиц и пациентов с остеоартритом, при РА в части вновь образовавшихся сосудов происходит потеря контакта эндотелиоцитов с перицитами, а в ЭК фиксируются значительные повреждения ДНК. Не исключено, что существенное количество нестабильных сосудов при РА связано с гипоксией окружающей микросреды.

В любом случае, изучение процесса неоваскуляризации необходимо продолжить, поскольку он имеет важ-

ное значение в патогенезе РА и является перспективной мишенью для терапевтического воздействия на течение этого заболевания.

Митохондриальная дисфункция при ревматоидном артите

В последние годы все большее внимание в патофизиологии РА отводится митохондриальной дисфункции (МД). В соответствии с известной теорией эндосимбиогенеза около двух миллиардов лет тому назад митохондрии возникли в результате поглощения предшественницей современной эукариотической клетки α -протеобактерии. Благодаря привнесенной способности вырабатывать АТФ это, по образному выражению J. Friedman и J. Nunnari [14], позволило митохондриям стать движущей силой эволюции. И действительно, митохондрии обеспечивают клетку энергией посредством окислительного фосфорилирования и через цикл трикарбоновых кислот (ТСА). Однако роль митохондрий в клеточном гомеостазе этим, безусловно, не ограничивается. Они обеспечивают выработку активных форм кислорода (АФК), участвуют в регуляции внутриклеточного гомеостаза кальция, клеточной пролиферации и метаболизме аминокислот и жирных кислот. Кроме того, как выяснилось, митохондрии участвуют в обеспечении функциональной активности иммунных клеток, таких как Т- и В-лимфоциты, макрофаги и нейтрофилы. Всё перечисленное позволило справедливо предположить, что нарушение нормального функционирования митохондрий или МД вносят вклад в патогенез иммунных заболеваний, в том числе и в развитие РА [13, 15–19]. Не исключено, что „чужеродное“ происхождение митохондрий также имеет отношение к развитию аутоиммунного процесса. Сегодня принято считать, что митохондриальная ДНК (мтДНК), выделившаяся из митохондрий в условиях МД, может выступать в качестве молекулярного паттерна, связанного с повреждением (DAMP) или алармина. мтДНК, как и другие признаки древних α -протеобактерий, а именно, неметилированные CpG-сайты и N-формильные пептиды могут распознаваться как чужеродные паттерны-распознающими рецепторами системы врожденного иммунитета (PRR), такими как TLR, Nod-подобные рецепторы (NLR) и другие, что и обуславливает предполагаемую роль митохондриальных структур в процессе аутоиммунного воспалительного процесса [15, 20–22].

Существует ряд причин, вызывающих МД и способствующих развитию РА. Среди них выделяют три основных тесно переплетающихся фактора: гипоксия окружающей микросреды, мутации мтДНК и окислительный внутриклеточный стресс.

В экспериментах *in vitro* было показано, что культивирование СФ, полученных от пациентов с РА в гип-

оксических условиях, наряду с активацией гликогеназы вызывало МД, выразившуюся во множественных изменениях генома митохондрий, снижении синтеза АТФ и избыточной продукции АФК [13]. Важную роль в возникновении МД при РА играет высокая частота мутаций мтДНК. По-видимому, это во многом обусловлено морфологическими особенностями мтДНК, которая в отличие от ядерной ДНК, не защищена структурами хроматина и гистонов. Если учесть, что активность ферментов репарации мтДНК не столь выражена по сравнению с ядерной ДНК, становится понятным, почему мтДНК легче подвергается повреждениям, в том числе и мутациям [16, 23]. Так, отсутствие гена, кодирующего нуклеазу репарации ДНК (*MRE11A*), усиливает склонность Т-клеток к старению и развитию воспалительной реакции при РА [24]. Структура, динамика и стабильность мтДНК при РА подвержены воздействию избытка АФК и провоспалительных факторов, особенно в фибробластоподобных синовиоцитах (ФПС). В свое время было показано, что наряду с гипоксией провоспалительные цитокины повышали частоту мутаций мтДНК, что обусловило развитие МД у пациентов с РА [25]. Сходные результаты были получены и в экспериментах *in vitro*, в которых частота мутаций мтДНК прямо коррелировала с содержанием провоспалительного TNF- α [26]. Наконец, как известно, митохондрии не только обеспечивают клетки энергией, но и производят значительные количества АФК, которые, в свою очередь, подвергают митохондрии окислению, образуя своеобразный порочный круг. Стало ясно, что окислительное повреждение митохондрий является одной из причин мутагенеза мтДНК [18]. Поэтому неудивительно, что мтДНК весьма чувствительны к мутациям, вызываемым АФК, что, в свою очередь, ставит под угрозу кодирование 13 полипептидов, необходимых для функционирования электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий. Показано, например, что АТФ-сингтаза, как и другие ферменты, обеспечивающие ЭТЦ, весьма чувствительна к окислительному воздействию [26, 27]. Митохондриальный геном является гипермутабельным по сравнению с ядерной ДНК, что, по-видимому, связано с повреждающим действием, производимым локализованными поблизости АФК, а также с тем, что процесс репликации мтДНК происходит гораздо чаще, чем ядерной ДНК [29].

Таким образом, неудивительно, что избыток АФК, возникающий при определенных обстоятельствах, повышает риск мутаций мтДНК, что обуславливает развитие МД. При этом избыточные АФК, очевидно, заставляют мтДНК кодировать неправильные полипептиды, что ведет к клеточной дисфункции, а также – к повреждению собственных митохондрий [16, 19, 29].

МД, приводящая к активации аутофагии, избыточному образованию АФК, формированию инфламмасомы NLRP3, а также аберрантной мтДНК, может служить триггером выхода мтДНК в цитозоль через поврежденную внутреннюю мембрану и зияющую переходную пору РТР. Затем мтДНК взаимодействует с рецептором TLR9, в результате чего происходит стимуляция сигнальных путей, активирующих воспаление [20]. Кроме того, мтДНК в условиях острого повреждения тканей может покидать клетки и попадать в общий кровоток. По крайней мере, значительный уровень внеклеточной мтДНК был обнаружен в плазме крови и синовиальной жидкости большинства пациентов с РА [30]. Особенno важной при РА представляется роль активируемого фактора транскрипции NF-кВ. Этот фактор является индуктором многочисленных провоспалительных цитокинов в моноцитах, макрофагах, а также, что особенно важно при РА, в синовиоцитах. В свою очередь, эти цитокины способны активировать NF-кВ в Т- и В-лимфоцитах синовиальной оболочки, главным образом – в ФПС. Это обеспечивает дополнительную экспрессию провоспалительных цитокинов и хемокинов, вовлекая тем самым иммунную систему и замыкая порочный круг [18].

Ключевую роль в провоспалительном эффекте мтДНК играет инициирование и регуляция функционирования инфламмасомы NLRP3. Инфламмасома NLRP3, являющаяся участником врожденного иммунитета, представляет собой высокомолекулярный полипротеиновый комплекс, содержащий паттернраспознающие рецепторы, сигнальные молекулы, каспазы-1 и -5 и другие компоненты. Она обеспечивает активацию воспалительного ответа, способствуя созреванию и секреции цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-18. Доказано, что инфламмасома высоко активирована у пациентов с РА, а также на соответствующих животных моделях как в клетках циркулирующей крови, так и в моноцитах/макрофагах синовиальной оболочки [31–33]. Другой важной функцией инфламмасомы NLRP3 является инициация пироптоза. Этот вид воспалительной формы программируемой гибели клетки осуществляется белком гасдермином D (GSDMD), неактивным в обычных условиях, и является одним из методов борьбы с внутриклеточными патогенами. Гасдермин D является специфическим субстратом для каспазы-1, расщепляющей этот белок. GSDMD, связываясь с клеточными мембранами, образует поры, что и приводит к пироптозу и высвобождению большого количества медиаторов воспаления. мтДНК вначале покидает митохондрии, попадает во внеклеточное пространство и вместе с другими аларминами и цитокинами является мощным активатором иммунных реакций [34]. По-видимому, NLRP3 активирует этот процесс через стимуляцию каспазы-1 [19].

Свободные радикалы и окислительный стресс в патогенезе ревматоидного артрита

Гипоксия и воспалительный процесс в синовиальной оболочке суставов, активируют избыточную продукцию АФК, приводящую к окислительному стрессу (ОС) и являющуюся важным звеном в патогенезе РА.

В условиях гипоксии и воспаления окружающих тканей мигрирующие лейкоциты вызывают мощный всплеск окисления, требующий значительного количества кислорода, часть молекул которого преобразуется в различные свободные радикалы, способствующие возникновению и персистированию аутоиммунного процесса. В нормальных условиях АФК образуются в небольших количествах и участвуют в процессе клеточного дыхания. Кроме того, они осуществляют защитную роль при инфекциях и ишемической прокондииции, выполняют функцию сигнальных молекул, а также участвуют в процессе дифференцировки клеток и апоптозе. При этом существует баланс между образованием АФК и их нейтрализацией, а также выведением из организма. Когда же происходит избыточное образование АФК или подавление антиоксидантной системы, баланс нарушается. Это обусловливает накопление АФК и связанных с ними метаболитов и приводит к повреждению тканей и развитию ОС [18, 19, 35, 36].

Сегодня мы располагаем убедительными данными, согласно которым ОС играет существенную роль в патогенезе РА, что подтверждается выявленной положительной корреляцией между клинической картиной заболевания и рядом биохимических показателей и маркеров окислительного повреждения, обнаруживаемыми в крови и синовиальной жидкости пациентов [37–42].

Роль АФК в отношении Т-клеток остается не до конца понятной и порой выглядит парадоксальной [36]. С одной стороны, недавно показано, что при РА под влиянием чрезмерной митохондриальной продукции АФК происходит изменение путей трансформации и функции CD4 $^{+}$ Т-клеток. Вместо их конверсии в клетки памяти и наивные Т-клетки, CD4 $^{+}$ Т-клетки в лимфоидных органах трансформируются в коротко живущие эффекторные Т-клетки, которые быстро рекрутируются в синовиум. Здесь они поддерживают интенсивную воспалительную реакцию, производя большое количество провоспалительных цитокинов [36, 43]. Важной представляется способность АФК активировать дифференцировку Th17, что приводит к усилению выработки ИЛ-17, содержание которого, как показано на модели экспериментального артрита, было существенно увеличено у нокаутных мышей. Это обусловило развитие более тяжелого воспаления суставов [44].

С другой стороны, как известно, АФК необходимы для транскрипции и пролиферации Т-лимфоцитов, в том числе

и Treg, которые являются важным подтиповом CD4⁺Т-клеток, поскольку поддерживают самотолерантность за счет секреции иммуносупрессивных и противовоспалительных цитокинов. Поэтому Treg нуждаются в АФК для обеспечения противовоспалительной эффективности [43]. У мышиных Th-клеток и в CD4⁺ Т-клеток, выделенных у пациентов с РА, применение прооксиданта ингибирировало индуцированную экспрессию IL-17 клетками Th-17 [45]. Поэтому, по-видимому, целесообразно присоединиться к предположению, недавно высказанному X. Wang и соавторами, согласно которому АФК являются наиболее важным звеном между клеточным метаболизмом и защитой от аутоагgressивного Т-клеточного иммунитета [36].

К сожалению, отсутствует достаточная ясность в определении роли АФК в отношении В-клеток как в здоровом организме, так и в условиях РА. По крайней мере, появившиеся недавно пространные обзоры, касающиеся в том числе и влияния АФК на эти клетки, не дают четких ответов на возникающие вопросы [19, 36]. Сегодня можно лишь с уверенностью утверждать, что АФК в значительной степени определяют судьбу В-клеток, а значит – их участие в патогенезе аутоиммунного процесса. Нельзя отрицать значение свободных радикалов в регуляции целого ряда метаболических процессов, контролирующих гомеостаз В-клеток за счет участия во многих внутриклеточных сигнальных путях в роли вторичных посредников. Многочисленные данные убедительно доказывают, что АФК активируют созревание, активацию, дифференцировку, пролиферацию и продукцию иммуноглобулинов. А применение антиоксидантов или скавенджеров АФК подавляло или ограничивало функциональную активность В-клеток [46–48]. С другой стороны, в экспериментах I. Khamaladze и соавторов [49] показано, что нокаутные мыши B10Q.ACb, демонстрирующие положительную селекцию аутоактивных В-клеток, были защищены от артрита, индуцируемого коллагеном. А введение мутации в ген *Ncf1*, ведущей к дефициту АФК, нивелировало эту резистентность, что указывает на опосредованную АФК толерантность В-клеток к аутоантigenам. Не исключено, что такая дихотомия может зависеть от разницы во внутриклеточной концентрации АФК в В-клетках. В экспериментах M.L. Wheeler и A.L. Defranco [50] были продемонстрированы две волны продукции АФК в В-клетках: быстрая (в течение 0–2 часов после стимуляции BCR покоящихся лимфоцитов) и медленная (на протяжении 6–24 часов). Вполне возможно, что в одном случае низкая концентрация АФК играла роль вторичных мессенджеров и обеспечивала активацию и дифференцировку В-клеток. В другом же случае, создаваемая высокая концентрация АФК приводила к развитию ОС и вызывала окислительное повреждение клеточных органелл [51]. Установлено, что

чрезмерная продукция АФК приводит к апоптозу В-клеток через каскад реакций, вовлекающих высвобождение из митохондрий цитохрома С и каспаз [46]. В то же время применение антиоксиданта N-ацетилцистеина (NAC) ингибирировало спонтанный апоптоз В-лимфоцитов миндалин человека *in vitro* [52].

Все большее внимание в последнее время привлекает роль нейтрофилов в патогенезе РА. Развивающееся воспаление обусловливает рекрутирование этих клеток в пораженные суставы, где они, активируясь и утрачивая миграционную способность, обеспечивают значительное усиление воспалительного процесса. Многофакторное действие нейтрофилов при аутоиммунном воспалении заключается в повышенной секреции цитокинов и хемокинов, что стимулирует фагоцитоз, врожденный и адаптивный иммунитет. Не менее важным представляется высвобождение из активированных нейтрофилов гранулярных ферментов и АФК, что приводит к образованию внеклеточных ловушек нейтрофилов (NET), а индуцированный благодаря этому нетоз вносит существенный вклад в развитие аутоиммунного воспаления [53, 54]. При РА внутриклеточный уровень АФК в полиморфноядерных лейкоцитах существенно возрастает, коррелируя с тяжестью заболевания и степенью развития воспалительного процесса. Кроме того показано, что в результате дегрануляции нейтрофилов, поступающих в синовиальные ткани при РА, содержание АФК здесь резко увеличивается вплоть до развития локального ОС [55, 56]. Особый интерес вызывает участие АФК в образовании NET. Установлено, что формирование NET требует выработки АФК, а мутации NADPH-оксидазы в нейтрофилах пациентов с хроническим гранулематозным заболеванием нарушают образование АФК и делают невозможным образование указанной сети [36]. Таким образом, одной из функций нейтрофилов, обеспечивающих патогенез РА, по-видимому, является участие в формировании нетоза. В процессе суицидального нетоза образующиеся своеобразные сети состоят из деконденсированного хроматина, гранулярных белков и фрагментов ядер, покидающих клетки через образовавшиеся поры в цитоплазматической мембране и поступающих во внеклеточное пространство. Удалось выяснить ключевую роль АФК в механизме образования NET. В частности, оказалось, что пероксид водорода вызывает диссоциацию нейтрофильного белкового комплекса азуросомы, что приводит к высвобождению ряда белков, в том числе миелопероксидазы (МПО) и нейтрофильной эластазы (НЭ), обуславливающих расщепление гистонов и деконденсацию хроматина. Кроме того, уже упоминавшийся в первой части обзора фермент PAD4, также поступающий в этих условиях в ядро, производит цитруллинирование гистонов, что с одной стороны, способствует их деконденсации, а с дру-

гой стороны – стимулирует развитие аутоиммунного процесса [53, 57]. Исследование нейтрофилов циркулирующей крови показало у пациентов с РА значительный рост спонтанно образующихся NET, содержания цитруллинированных эпитопов, а также активности МПО, НЭ, PAD4 и образования АФК. А у животных ингибирование формирования NET ослабляло тяжесть коллаген-индуцированного артрита [57–59].

Значение макрофагов в патогенезе хронического воспалительного процесса при РА с последующим прогрессирующим разрушением суставов трудно переоценить. Резидентные макрофагоподобные синовиальные клетки (МПС), имеющие моноцитарно-макрофагальное происхождение, эволюционируют в условиях гипоксической среды синовиальной оболочки в основном в направлении М1 фенотипа. Напоминаем, что этот фенотип обладает способностью секретировать значительное количество многочисленных цитокинов, хемокинов и ММП, способствующих развитию воспалительной реакции и разрушению хряща и кости [60–62]. Выяснилось, что этим функционирование МПС не ограничивается, поскольку они продуцируют также NO и супероксид, обладающие высокой деструктивной активностью в отношении окружающих тканей. Кроме того, вырабатываемые в макрофагах АФК регулируют активацию соседних Т-клеток посредством презентации антигена [63]. По-видимому, дисбаланс в сторону М1 фенотипа МПС и обусловливает непрерывную активацию иммунных и стромальных клеток в синовиальных тканях при РА [36].

В ходе развивающегося при РА воспалительного процесса решающее значение имеют активированные ФПС. При РА, в силу ряда обстоятельств, ФПС утрачивают свои защитные и обеспечивающие регенерацию свойства и приобретают иной фенотип, подобный опухолевым клеткам. И во всех, ранее перечисленных свойствах ФПС, важную роль, по-видимому, играют свободные радикалы. Как обсуждалось выше, увеличение образования АФК в значительной степени обусловлено возникающей гипоксией в синовиальных тканях и развивающейся МД в иммунных клетках и в резидентных ФПС. Каковы причины подобных изменений фенотипа ФПС? Этот вопрос не имеет пока однозначного и исчерпывающего ответа. Но ряд подходов и предположений может быть рассмотрен. Метаболическое профилирование культивируемых ФПС от больных с РА показало множественные изменения во внутриклеточных биохимических каскадах, включая метаболизм аминокислот, жиров и углеводов, а также биосинтез белка [64]. По всей видимости, причина изменения фенотипа ФПС носит многофакторный характер и включает как генные мутации, так и факторы синовиального микроокружения. Культивирование ФПС больных

РА с донатором NO вызвало дисбаланс в экспрессии генов reparации ДНК *MSH6* и *MSH3*, что объясняется, по-видимому, повышенной микросателлитной нестабильностью, т.е. высокой склонностью клеток к мутациям [65]. В других исследованиях были обнаружены мутации гена *TP53*, кодирующего белок p53, поддерживающего геном клетки, так называемого „хранителя генома“. Этот белок подавляет пролиферацию клеток с поврежденной ДНК. Миссенс-мутации p53, обусловленные NO, приводят к длительной экспрессии этого белка в синовиальной оболочке при РА, что увеличивает количество ФПС, защищает их от апоптоза и повышает инвазивность [36, 66]. К аналогичному эффекту приводит и мутация гена *LBH* [67]. Существенно изменяется фенотип ФПС под влиянием избыточного образования свободных радикалов в условиях развивающейся МД [68]. В этой ситуации АФК, кроме клеточных липидов и белков, окисляют находящуюся рядом с ними мтДНК, обеспечивая образование промежуточных аддуктов ДНК, что увеличивает риск мутаций мтДНК и еще больше отягощает МД. Возросшее количество ФПС в синовиальной жидкости повышает активность ряда внутриклеточных сигнальных путей, в том числе NF-кВ, инфламмасомы NLRP3, а также образование множества цитокинов, способствующих развитию воспаления. Кроме того, показано, что в процессе перекисного окисления липидов (ПОЛ) из супероксида образуется альдегид 4-HNE, стимулирующий мутацию ДНК в синовиоцитах, что активирует проангиогенный эффект, способствующий инвазивности [69].

Итак, активация ФПС обеспечивает их инвазивность в условиях РА. Данные клетки продуцируют ряд ферментов, таких как ММП и коллагеназы, обладающие инвазивными свойствами, что обуславливает проникновение синовиоцитов в хрящевую и костную ткань с последующим ее разрушением. Этому же способствует повышенная экспрессия молекул адгезии и интегринов, которые влияют на соседние хондроциты ХЦ, продуцируя ферменты, деградирующие синовиальный внеклеточный матрикс (ЕСМ) [17, 70, 71].

Наконец, следует отметить такие важные факторы, изменяющие функциональную активность ФПС, как аутофагия и апоптоз. Показано, что повышение образования АФК активирует аутофагию, тем самым защищая ФПС от апоптоза и способствуя накоплению синовиоцитов и их инвазивности. Напомним, что аутофагия – защитный процесс, с помощью которого клетка избавляется от дисфункциональных компонентов, что позволяет пролонгировать ее жизненный цикл. Выяснено, что при РА уровень аутофагии в синовиальных тканях увеличивается, коррелируя со степенью тяжести заболевания и содержанием связанных с аутофагией белков, таких как Beclin 1, Atg5

и LC3 [72]. Как отмечено в обзоре канадских исследователей, гипоксия, симулируя различными путями образование АФК, индуцирует аутофагию [73]. При этом в синовиоцитах четко прослеживается обратная зависимость между аутофагией и апоптозом [74, 75]. Здесь следует согласиться с мнением W. Jing и соавторов, согласно которому биологическая роль и механизмы аутофагии, в том числе и при РА, весьма далеки от понимания. Не просто, например, совместить с одной стороны защиту ФПС от различных повреждающих воздействий, с другой стороны – усиление агрессивности и инвазивности синовиоцитов [19]. По всей вероятности, происходящие в ФПС изменения выработки АФК, функционирования митохондрий и резистентности к апоптозу, связаны целым комплексом сложных взаимодействий, к сожалению, до сих пор не всегда понятных. Возможно, угнетение апоптоза ФПС при РА обусловлено нарушением баланса между проапоптотическими и антиапоптотическими факторами, от которого зависит целостность наружной мембранны митохондрий. При РА в синовиоцитах происходит сдвиг отмеченного баланса в сторону преобладания активности антиапоптотических белков семейства BCL-2, что и вносит вклад в повышение выживаемости этих клеток [76]. Не так давно в экспериментах *in vitro* с использованием ФПС пациентов с РА, активированных цитокином TL1A, наряду с повышением образования АФК, в поврежденных митохондриях было обнаружено снижение внутриклеточного уровня цитохрома С. Это наводит на мысль, что зафиксированная устойчивость к апоптозу была обусловлена вовлечением внутреннего митохондриального пути [68]. Отметим и вероятную роль сигнального пути NF-кВ, активируемого с помощью TNF и обладающего антиапоптотическим эффектом, что также может вносить вклад в резистентность ФПС к апоптозу. Это представляет интерес в связи с появлением сведений о том, что ингибирование TNF у мышей с экспериментальным артритом повышало чувствительность СФ к ферроптозу, типу клеточной гибели, вызываемой железодефицитным ПОЛ [77]. Так, следует согласиться с мнением, согласно которому резистентность синовиоцитов к апоптозу возникает как следствие комплексного процесса.

Чрезмерная активация радикального окисления при РА оказывает неблагоприятное воздействие не только на синовиальную оболочку, но и вносит вклад в повреждение суставного хряща и в резорбцию кости. Патогенез окислительного повреждения хряща в значительной степени зависит от его структурных и функциональных особенностей. Основными структурными элементами хряща являются ECM и высокодифференцированные клетки ХЦ. Около 75% сухого остатка ECM приходится на долю коллагенов (в основном коллагена II типа) и 20–30% – на

долю протеогликанов (в основном агрекана). Поскольку суставной хрящ лишен кровоснабжения, он приспособлен к функционированию в гипоксической среде. Так, если в нормальной крови напряжение кислорода составляет 13–17%, в хряще этот показатель колеблется от 5–7% на поверхности до 1% в глубоких слоях хряща. Тем не менее, ХЦ, получая кислород из синовиальной жидкости, содержат большое количество митохондрий, обеспечивающих значительную выработку АТФ и АФК. При этом энергетические потребности ХЦ на 75% удовлетворяются за счет гликолиза и на 25% за счет окислительного фосфорилирования [78, 79]. В норме зрелые резидентные ХЦ проявляют низкую метаболическую активность на фоне оксидантного и антиоксидантного баланса. При РА происходит сдвиг баланса в сторону увеличения образования свободных радикалов, что и обуславливает деградацию ECM и гибель ХЦ. Безусловно, ключевым драйвером этого процесса является развивающееся при РА синовиальное воспаление. Среди АФК, вырабатываемых ХЦ, наибольшего внимания заслуживают супероксид и H_2O_2 , а также, возможно, реактивные формы NO. Чрезмерная выработка свободных радикалов приводит к окислительному повреждению белков, липидов, ДНК, а также резко изменяет функционирование внутриклеточных редокс-регулируемых сигнальных путей. Причем активация описываемого процесса тесно связана с уже неоднократно упоминавшимися факторами, такими как гипоксия и МД [70, 78, 80].

Провоспалительные цитокины, вырабатываемые СФ, количество которых резко возрастает в условиях аутоиммунного процесса, стимулируют образование ферментов, разрушающих хрящ и ингибирующих выработку ECM. К ним относятся ММП и агреканазы. В частности, при РА была выявлена сверхэкспрессия целого ряда ММП. А применение антител к ММП-14 ингибировало деструкцию хряща у мышей с экспериментальным артритом [81]. В другом исследовании показано, что коллагены ECM хряща разрушались ферментами ММП-1 и ММП-13, а протеогликаны – ММП-3 [82]. В последние годы выявлен еще один путь деградации хряща, связанный со свободными радикалами и обусловленный локальным накоплением продуктов окисления белков (AOPP). AOPP представляют собой битирозиновые соединения („сшивки“) отдельных молекул белков, образующихся при воздействии АФК, которые, в свою очередь, активируются у пациентов с РА образование свободных радикалов в ХЦ. Установлено, что в результате действия AOPP в клетках хряща индуцируются МД, стресс эндоплазматического ретикулума и активация каспаз, что приводит к апоптозу ХЦ [19, 79]. Применение же антиоксиданта NAC существенно ослабляло описываемый эффект у кроликов с экспериментальным артритом [83].

Основным фактором, приводящим к эрозии костной ткани сустава при РА, является нарушение метаболического баланса между остеокластами (ОК) и остеобластами (ОБ) в пользу ОК, что приводит к деструкции кости, нарушению ее минеральной плотности и повышению хрупкости. Существенную роль в нарушении этого баланса играют АФК (в основном супероксид и H_2O_2). Описываемое взаимодействие через активацию адаптерной молекулы TRAF6 индуцирует стимуляцию ряда внутриклеточных редокс-модулируемых каскадов, таких как NF-кБ, Р13К и МАРК (ERK, JNK и p38). Это приводит к транслокации к ядру фактора транскрипции NFATc1, обеспечивающего экспрессию ферментов деструкции костной ткани, таких как ММП, катепсин К и TRAP (тарторезистентная кислая фосфатаза). Названные ферменты продуцируют локальную ацидификацию окружающей среды и деградируют костный матрикс. Этим, по-видимому, роль АФК в костной резорбции не исчерпывается. По мнению ряда исследователей, образующиеся в ОК свободные радикалы в качестве вторичных посредников, кроме вышеуказанных сигнальных путей, активируют также GM-CSF – фактор, способствующий созреванию и дифференцировке предшественников ОК. Кроме того, было показано, что АФК, индуцируя внутриклеточную активацию тирозинкиназы c-Src и инактивацию тирозинфосфатазы SHP-1, обеспечивают выживание ОК. Выяснилось также, что свободные радикалы повышали экспрессию в ОК уже не раз упоминавшегося HIF-1 α с последующей активацией янус-киназы и сигнального пути JAK2/STAT3, приводя к активации RANKL и дифференцировке ОК [19].

Что касается ОБ, воздействие АФК на эти клетки, по-видимому, менее выражено. Большинство исследователей полагает, что значительное увеличение содержания свободных радикалов губительно воздействует на ОБ, вызывая их апоптоз. По крайней мере, имеются сведения, согласно которым МД, индуцированная АФК, вызывала повышенный выход из митохондрий этих клеток цитохрома С и активацию каспазы-3 – бесспорные признаки апоптоза [84]. По всей вероятности, следует согласиться с мнением приведенных авторов, согласно которому подобный эффект свойствен лишь чрезмерным количествам АФК, от меньших же концентраций следует ожидать скорее благоприятного влияния на функциональную активность ОБ [84].

Литература

(п.п. 5–8; 11–19; 22–33; 36; 39–52; 54–57; 60–84
см. References)

- Спринджук М.В. Ангиогенез. *Морфология*. 2010; 4(3): 4–13.
- Щава С.П. Факторы роста сосудов и неоангиогенез при гипоксии и ишемии. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2007; (1): 127–31.

- Васильев И.С., Васильев С.А., Абушкин И.А., Денис А.Г., Судейкина О.А., Лапин В.О. и др. Ангиогенез (Литературный обзор). *Человек. Спорт. Медицина*. 2017; 17(1): 36–45. <https://doi.org/10.14529/hsm170104>
- Черток В.М., Захарчук Н.В., Черток А.Г. Клеточно-молекулярные механизмы регуляции ангиогенеза в головном мозге. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2017; 117(8–2): 43–55. <https://doi.org/10.17116/jneuro20171178243-55>
- Комарова Е.Б. Маркеры ангиогенеза у больных ревматоидным артритом в зависимости от клинических особенностей заболевания. *Современная ревматология*. 2017; 11(1): 28–32.
- Александрова Л.А., Филиппова Н.А., Иман А., Субботина Т.Ф., Трофимов В.И. Взаимосвязь медиатора онтогенеза VEGF-A с параметрами метаболизма глутатиона и клиническими характеристиками системных аутоиммунных заболеваний с поражением суставов. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова*. 2018; XXV(4): 64–9.
- Григорьев Е.В., Салахов Р.Р., Голубенко М.В., Понасенко А.В., Шукевич Д.Л., Матвеева В.Г. и др. Митохондриальная ДНК как кандидатный DAMP при критических состояниях. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18(3): 134–43. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-134-143>
- Саидов М.З. DAMP-опосредованное воспаление и регулируемая гибель клеток при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях. *Медицинская иммунология*. 2023; 25(1): 7–38. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-DMI-2557>
- Гаранина Е.Е., Мартынова Е.В., Иванов К.Я., Ризванов А.А., Хайбуллина С.Ф. Инфламмасомы: роль в патогенезе заболеваний и терапевтический потенциал. *Ученые записки Казанского университета*. 2020; 162(1): 80–111. <https://doi.org/10.26907/2542-064x.2020.1.80-111>
- Гребенчиков О.А., Забелина Т.С., Филипповская Ж.С., Герасименко О.Н., Плотников Е.Ю., Лихванцев В.В. Молекулярные механизмы окислительного стресса. *Вестник интенсивной терапии*. 2016; (3): 13–21. <https://www.elibrary.ru/wybgnn>
- Жданова Е.В., Костоломова Е.Г., Волкова Д.Е., Зыков А.В. Клеточный состав и цитокиновый профиль синовиальной жидкости при ревматоидном артите. *Медицинская иммунология*. 2022; 24 (5): 1017–26. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-CCA-2520>
- Зиядуллаев Ш.Х., Худайбердиев Ш.Ш., Арипова Т.У., Ризаев Ж.А., Камалов З.С., Султонов И.И. и др. Иммунные изменения в синовиальной жидкости при ревматоидном артите. *Иммунология*. 2023; 44 (5): 653–62. <https://doi.org/10.33029/1816-2134-2023-44-5-653-662>
- Воробьева Н.В. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: новые аспекты. *Вестник Московского Университета. Серия 16. Биология*. 2020; 75 (4): 210–25.
- Бедина С.А., Мозговая Е.Э., Трофименко А.С., Спицина С.С., Мамус М.А. Образование внеклеточных ловушек нейтрофилами и моноцитами периферической крови больных ревматоидным артритом: изучение нового цитруллинсодержащего аутоантигена. *Медицинская иммунология*. 2021; 23(5): 1165–70. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-FOE-2301>
- Бедина С.А., Мозговая Е.Э., Трофименко А.С., Спицина С.С., Мамус М.А. Внеклеточные ловушки нейтрофилов: особенности образования при ревматоидном артрите и остеоартрите. *Медицинская иммунология*. 2024; 26(1): 175–80. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-NET-2672>

References

1. Sprindzuk M.V. The angiogenesis. *Morfologiya*. 2010; 4(3): 4–13. (in Russian)

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.101-112

2. Shhava S.P. Vascular growth factors and neoangiogenesis during hypoxia and ischemia. *Dal'nevostochnyi meditsinskiy zhurnal*. 2007; (1): 127–31. (in Russian)
3. Vasilyev I.S., Vasilyev S.A., Abushkin I.A., Denis A.G., Sudeykina O.A., Lapin V.O., et al. Angiogenesis: literature review. *Chelovek, sport, meditsina*. 2017; 17(1): 36–45. <https://doi.org/10.14529/hsm170104> (in Russian)
4. Chertok V.M., Zakharchuk N.V., Chertok A.G. The cellular and molecular mechanisms of angiogenesis regulation in the brain. *Zhurnal nevrologii i psichiatrii im. S.S. Korsakova*. 2017; 117(8–2): 43–55. <https://doi.org/10.17116/jnevro20171178243-55> (in Russian)
5. Elshabrawy H.A., Chen Z., Volin M.V., Ravella S., Virupannavar S., Shahrra S. The pathogenic role of angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Angiogenesis*. 2015; 18(4): 433–48. <https://doi.org/10.1007/s10456-015-9477-2>
6. Wang Y., Wu H., Deng R. Angiogenesis as a potential treatment strategy for rheumatoid arthritis. *Eur. J. Pharmacol.* 2021; 910: 174500. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174500>
7. Guo X., Chen G. Hypoxia-inducible factor is critical for pathogenesis and regulation of immune cell functions in rheumatoid arthritis. *Front. Immunol.* 2020; 11: 1668. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01668>
8. Szekanecz Z., Besenyei T., Paragh G., Koch A.E. Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Autoimmunity*. 2009; 42(7): 563–73. <https://doi.org/10.1080/08916930903143083>
9. Komarova E.B. Markers of angiogenesis in patients with rheumatoid arthritis depending on its clinical characteristics. *Sovremennaya Revmatologiya*. 2017; 11(1): 28–32. (in Russian)
10. Alexandrova L.A., Filippova N.A., Iman A., Subbotina T.F., Trofimov V.I. Interrelationship of the mediator of angiogenesis of VEGF-A with glutathione metabolism parameters and the clinical characteristics of systemic autoimmune diseases with joint damage. *Uchenye zapiski SPbGMU im. akad. I.P. Pavlova*. 2018; XXV (4): 64–9. (in Russian)
11. Zhao F., He Y., Zhao Z., He J., Huang H., Ai K., et al. The Notch signaling-regulated angiogenesis in rheumatoid arthritis: pathogenic mechanisms and therapeutic potentials. *Front. Immunol.* 2023; 14: 1272133. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1272133>
12. Gao W., Sweeney C., Connolly M., Kennedy A., Ng C.T., McCormic J., et al. Notch-1 mediates hypoxia-induced angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2012; 64(7): 2104–13. <https://doi.org/10.1002/art.34397>
13. Fearon U., Canavan M., Biniecka M., Veale D.J. Hypoxia, mitochondrial dysfunction and synovial invasiveness in rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2016; 12(7): 385–97. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2016.69>
14. Friedman J.R., Nunnari J. Mitochondrial form and function. *Nature*. 2014; 505(7483): 335–43. <https://doi.org/10.1038/nature12985>
15. McGarry T., Biniecka M., Veale D.J., Fearon U. Hypoxia, oxidative stress and inflammation. *Free Radic. Biol. Med.* 2018; 125: 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.042>
16. Ma C., Wang J., Hong F., Yang S. Mitochondrial dysfunction in rheumatoid arthritis. *Biomolecules*. 2022; 12(9): 1216. <https://doi.org/10.3390/biom12091216>
17. Li M., Luo X., Long X., Jiang P., Jiang Q., Guo H., et al. Potential role of mitochondria in synoviocytes. *Clin. Rheumatol.* 2021; 40(2): 447–57. <https://doi.org/10.1007/s10067-020-05263-5>
18. López-Armada M.J., Fernández-Rodríguez J.A., Blanco F.J. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in rheumatoid arthritis. *Antioxidants (Basel)*. 2022; 11(6): 1151. <https://doi.org/10.3390/antiox11061151>
19. Jing W., Liu C., Su C., Liu L., Chen P., Li X., et al. Role of reactive oxygen species and mitochondrial damage in rheumatoid arthritis and targeted drugs. *Front. Immunol.* 2023; 14: 1107670. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1107670>
20. Grigoriev E.V., Salakhov R.R., Golubenko M.V., Ponasenko A.V., Shukevich D.L., Matveeva V.G., et al. Mitochondrial DNA as DAMP in critical conditions. *Byulleten' sibirskoi meditsiny*. 2019; 18(3): 134–43. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-134-143> (in Russian)
21. Saidov M.Z. DAMP-mediated inflammation and regulated cell death in immunoinflammatory rheumatic diseases. *Meditinskaya immunologiya*. 2023; 25(1): 7–38. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-DMI-2557> (in Russian)
22. Koenig A., Buskiewicz-Koenig I.A. Redox activation of mitochondrial DAMPs and the metabolic consequences for development of autoimmunity. *Antioxid. Redox Signal.* 2022; 36(7–9): 441–61. <https://doi.org/10.1089/ars.2021.0073>
23. Sharma P., Sampath H. Mitochondrial DNA integrity: role in health and disease. *Cells*. 2019; 8(2): 100. <https://doi.org/10.3390/cells8020100>
24. Li Y., Shen Y., Hohensinner P., Ju J., Wen Z., Goodman S.B., et al. Deficient activity of the nuclease MRE11A induces T cell aging and promotes arthritogenic effector functions in patients with rheumatoid arthritis. *Immunity*. 2016; 45(4): 903–16. <https://doi.org/10.1016/j.jimmuni.2016.09.013>
25. Biniecka M., Fox E., Gao W., Ng C.T., Veale D.J., Fearon U., et al. Hypoxia induces mitochondrial mutagenesis and dysfunction in inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum.* 2011; 63(8): 2172–82. <https://doi.org/10.1002/art.30395>
26. Harty L.C., Biniecka M., O'Sullivan J., Fox E., Mulhall K., Veale D.J., et al. Mitochondrial mutagenesis correlates with the local inflammatory environment in arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2012; 71(4): 582–8. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-200245>
27. Ebanks B., Chakrabarti L. Mitochondrial ATP synthase is a target of oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Front. Mol. Biosci.* 2022; 9: 854321. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.854321>
28. Lawless C., Greaves L., Reeve A.K., Turnbull D.M., Vincent A.E. The rise and rise of mitochondrial DNA mutations. *Open Biol.* 2020; 10(5): 200061. <https://doi.org/10.1098/rsob.200061>
29. Li C-J. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in human diseases: pathophysiology, predictive biomarkers, therapeutic. *Biomolecules*. 2020; 10(11): 1558. <https://doi.org/10.3390/biom10111558>
30. Collins L.V., Hajizadeh S., Holme E., Jonsson I-M., Tarkowski A. Endogenously oxidized mitochondrial DNA induces *in vivo* and *in vitro* inflammatory responses. *J. Leukoc. Biol.* 2004; 75: 995–1000. <https://doi.org/10.1189/jlb.0703328>
31. Choulaki C., Papadaki G., Repa A., Kampouraki E., Kambas K., Ritis K., et al. Enhanced activity of NLRP3 inflammasome in peripheral blood cells of patients with active rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2015; 17(1): 257. <https://doi.org/10.1186/s13075-015-0775-2>
32. Zhang Y., Zheng Y., Li H. NLRP3 inflammasome plays an important role in the pathogenesis of collagen-induced arthritis. *Mediat. Inflamm.* 2016; 2016: 9656270. <https://doi.org/10.1155/2016/9656270>
33. Guo C., Fu R., Wang S., Huang Y., Li X., Zhou M., et al. NLRP3 inflammasome activation contributes to the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* 2018; 194(2): 231–43. <https://doi.org/10.1111/cei.13167>
34. Garanina E.E., Martynova E.V., Ivanov K.Y., Rizvanov A.A., Khaiboullina S.F. Inflammasomes: role in disease pathogenesis and therapeutic potential. *Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta*. 2020; 162(1): 80–111. <https://doi.org/10.26907/2542-064x.2020.1.80-111> (in Russian)

35. Grebenchikov O.A., Zabelina T.S., Philippovskaya Zh.S., Gerasimenko O.N., Plotnikov E.Y., Likhvantsev V.V. Molecular mechanisms of oxidative stress. *Vestnik intensivnoy terapii*. 2016; (3): 13–21. (in Russian)
36. Wang X., Fan D., Cao X., Ye Q., Wang Q., Zhang M., et al. The role of reactive oxygen species in the rheumatoid arthritis-associated synovial microenvironment. *Antioxidants*. 2022; 11(6): 1153. <https://doi.org/10.3390/antiox11061153>
37. Zhdanova E.V., Kostolomova E.G., Volkova D.E., Zykov A.V. Cellular composition and cytokine profile of synovial fluid in rheumatoid arthritis. *Meditinskaya immunologiya*. 2022; 24(5): 1017–26. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-CCA-2520> (in Russian)
38. Ziyadullaev Sh.Sh., Khudaiberdiev Sh.Sh., Aripova T.U., Rizaev J.A., Kamalov Z.S., Sultonov I.I., et al. Immune changes in synovial fluid in rheumatoid arthritis. *Immunologiya*. 2023; 44(5): 653–62. (in Russian). <https://doi.org/10.33029/1816-2134-2023-44-5-653-662>
39. Datta S., Kundu S., Ghosh P., De S., Ghosh A., Chatterjee M. Correlation of oxidant status with oxidative tissue damage in patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.* 2014; 33(11): 1557–15. <https://doi.org/10.1007/s10067-014-2597-z>
40. Phull A-R., Nasir B., Haq I.U., Kim S.J. Oxidative stress, consequences and ROS mediated cellular signaling in rheumatoid arthritis. *Chem. Biol. Interact.* 2018; 281: 121–36. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.12.024>
41. Da Fonseca L.J.S., Nunes-Souza V., Goulart M.O.F., Rabelo L.A. Oxidative stress in rheumatoid arthritis: what the future might hold regarding novel biomarkers and add-on therapies. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019; 2019: 7536805. <https://doi.org/10.1155/2019/7536805>
42. de Paz N.M., Quevedo-Abeledo J.C., Gómez-Bernal F., de Vera-González A., Abreu-González P., Martín-González C., et al. Malondialdehyde serum levels in a full characterized series of 430 rheumatoid patients. *J. Clin. Med.* 2024; 13: 901. <https://doi.org/10.3390/jcm13030901>
43. Chávez M.D., Tse H.M. Targeting mitochondrial-derived reactive oxygen species in T cell-mediated autoimmune disease. *Front. Immunol.* 2021; 12: 703972. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.703972>
44. Zhi L., Ustyugova I.V., Chen Z., Zhang Q., Wu M.X. Enhanced Th17 differentiation and aggravated arthritis in IEX-1-deficient mice by mitochondrial reactive oxygen species-mediated signaling. *J. Immunol.* 2012; 189: 1639–47. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1200528>
45. Abimannan T., Peroumal D., Parida J.R., Barik P.K., Padhan P., Devadas S. Oxidative stress modulates the cytokine response of differentiated Th17 and Th1 cells. *Free Radic. Biol. Med.* 2016; 99: 352–63. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.08.026>
46. Zhang H., Wang L., Chu Y. Reactive oxygen species: the signal regulator of B cell. *Free Radic. Biol. Med.* 2019; 142: 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.06.004>
47. Kristyanto H., Blomberg N.J., Slot L.M., van der Voort E.I.H., Kerkman P.F., Bakker A., et al. Persistently activated, proliferative memory autoreactive b cells promote inflammation in rheumatoid arthritis. *Sci. Transl. Med.* 2020; 12(570): eaaz5327. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaz5327>
48. Bassoy E.Y., Walch M., Martinvalet D. Reactive oxygen species: do they play a role in adaptive immunity? *Front. Immunol.* 2021; 12: 755856. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.755856>
49. Khamaladze I., Saxena A., Nandakumar K.S., Holmdahl R. B-cell epitope spreading and inflammation in a mouse model of arthritis associated with a deficiency in reactive oxygen species production. *Eur. J. Immunol.* 2015; 45(8): 2243–51. <https://doi.org/10.1002/eji.201545518>
50. Wheeler M.L., Defranco A.L. Prolonged production of reactive oxygen species in response to B cell receptor stimulation promotes B cell activation and proliferation. *J. Immunol.* 2012; 189(9): 4405–16. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1201433>
51. Berman-Riu M., Cunill V., Clemente A., López-Gómez A., Pons J., Ferrer J.M. Dysfunctional mitochondria, disrupted levels of reactive oxygen species, and autophagy in B cells from common variable immunodeficiency patients. *Front. Immunol.* 2024; 15: 1362995. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1362995>
52. Rosati E., Sabatini R., Ayroldi E., Tabilio A., Bartoli A., Bruscoli S., et al. Apoptosis of human primary B lymphocytes is inhibited by N-acetyl-L-cysteine. *J. Leukoc. Biol.* 2004; 76(1): 152–61. <https://doi.org/10.1189/jlb.0403148>
53. Vorobjeva N.V. Neutrophil extracellular traps: new aspects. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya*. 2020; 75(4): 210–25. (in Russian)
54. Cecchi I., Arias de la Rosa I., Menegatti E., Roccatello D., Collantes-Estevez E., Lopez-Pedrera C., et al. Neutrophils: novel key players in rheumatoid arthritis. Current and future therapeutic targets. *Autoimmun. Rev.* 2018; 17(11): 1138–49. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2018.06.006>
55. Bedouhène S., Dang PM-C., Hurtado-Nedelec M., El-Benna J. Neutrophil degranulation of azurophil and specific granules. *Methods Mol. Biol.* 2020; 2087: 215–22. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0154-9_16
56. Kaushal J., Kamboj A., Anupam K., Tandon A., Sharma A., Bhatnagar A. Interplay of redox imbalance with matrix gelatinases in neutrophils and their association with disease severity in rheumatoid arthritis patients. *Clin. Immunol.* 2022; 237: 108965. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2022.108965>
57. Song W., Ye J., Pan N., Tan C., Herrmann M. Neutrophil extracellular traps tied to rheumatoid arthritis: points to ponder. *Front. Immunol.* 2020; 11: 578129. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.578129>
58. Bedina S.A., Mozgovaya E.E., Trofimenco A.S., Spitsyna S.S., Mamus M.A. Formation of extracellular traps by circulating neutrophils and monocytes in rheumatoid arthritis patients: a study of new citrullinated autoantigen. *Meditinskaya Immunologiya*. 2021; 23(5): 1165–70. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-FOE-2301> (in Russian)
59. Bedina S.A., Mozgovaya E.E., Trofimenco A.S., Spicina S.S., Mamus M.A. Neutrophil extracellular traps: features of their formation in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Meditinskaya Immunologiya*. 2024; 26(1): 175–80. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-NET-2672> (in Russian)
60. Yang X., Chang Y., Wei W. Emerging role of targeting macrophages in rheumatoid arthritis: focus on polarization, metabolism and apoptosis. *Cell Prolif.* 2020; 53(7): e12854. <https://doi.org/10.1111/cpr.12854>
61. Cutolo M., Campitiello R., Gotelli E., Soldano S. The role of M1/M2 macrophage polarization in rheumatoid arthritis synovitis. *Front. Immunol.* 2022; 13: 867260. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.867260>
62. Nandakumar K.S., Fang Q., Agren I.W., Bejmo Z.F. Aberrant activation of immune and non-immune cells contributes to joint inflammation and bone degradation in rheumatoid arthritis. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(21): 15883. <https://doi.org/10.3390/ijms242115883>
63. Dumas A., Knaus U.G. Raising the ‘good’ oxidants for immune protection. *Front. Immunol.* 2021; 12: 698042. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.698042>
64. Hu Z., Li Y., Zhang L., Jiang Y., Long C., Yang Q., Yang M. Metabolic changes in fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis: state of the art review. *Front. Immunol.* 2024; 15: 1250884. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1250884>

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.101-112

65. Kullman F., Widmann T., Kirner A., Jüsten H.P., Wessinghage D., Dietmaier W., et al. Microsatellite analysis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Ann. Rheum. Dis.* 2000; 59(5): 386–9. <https://doi.org/10.1136/ard.59.5.386>
66. Taghadosi M., Adib M., Jamshidi A., Mahmoudi M., Farhadi E. The p53 status in rheumatoid arthritis with focus on fibroblast-like synoviocytes. *Immunol. Res.* 2021; 69(3): 225–38. <https://doi.org/10.1007/s12026-021-09202-7>
67. Ekwall A.-K.H., Whitaker J.W., Hammaker D., Bugbee W.D., Wang W., Firestein G.S. The rheumatoid arthritis risk gene LBH regulates growth in fibroblast-like synoviocytes. *Arthritis Rheumatol.* 2015; 67(5): 1193–202. <https://doi.org/10.1002/art.39060>
68. Al-Azab M., Qaed E., Ouyang X., Elkhider A., Walana W., Li H., et al. TL1A/TNFR2-mediated mitochondrial dysfunction of fibroblast-like synoviocytes increases inflammatory response in patients with rheumatoid arthritis via reactive oxygen species generation. *FEBS J.* 2020; 287(14): 3088–104. <https://doi.org/10.1111/febs.15181>
69. Balogh E., Veale D.J., McGarry T., Orr C., Szekanecz Z., Ng C-T., et al. Oxidative stress impairs energy metabolism in primary cells and synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2018; 20(1): 95. <https://doi.org/10.1186/s13075-018-1592-1>
70. Henrotin Y.E., Bruckner P., Pujol J.P. The role of reactive oxygen species in homeostasis and degradation of cartilage. *Osteoarthr. Cartil.* 2003; 11(10): 747–55. [https://doi.org/10.1016/s1063-4584\(03\)00150-x](https://doi.org/10.1016/s1063-4584(03)00150-x)
71. Tu J., Hong W., Zhang P., Wang X., Korner H., Wei W. Ontology and function of fibroblast-like and macrophage-like synoviocytes: how do they talk to each other and can they be targeted for rheumatoid arthritis therapy? *Front. Immunol.* 2018; 98: 1467. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01467>
72. Zhu L., Wang H., Wu Y., He Z., Qin Y., Shen Q. The autophagy level is increased in the synovial tissues of patients with active rheumatoid arthritis and is correlated with disease severity. *Mediators Inflamm.* 2017; 2017: 7623145. <https://doi.org/10.1155/2017/7623145>
73. Redza-Dutordoir M., Averill-Bates D.A. Interactions between reactive oxygen species and autophagy: special issue: death mechanisms in cellular homeostasis. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res.* 2021; 1868(8): 119041. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2021.119041>
74. Karami J., Masoumi M., Khorramdelazad H., Bashiri H., Darvishi P., Sereshki H.A., et al. Role of autophagy in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: latest evidence and therapeutic approaches. *Life Sci.* 2020; 254: 117734. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117734>
75. Ding J.T., Hong F.-F., Yang S.-L. Roles of autophagy in rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2022; 40(11): 2179–87. <https://doi.org/10.55563/clinexprheumatol/exg1ic>
76. Busteed S., Bennett M.W., Molloy C., Houston A., Stone M.A., Shanahan F., Molloy M.G., O'Connell J. *Bcl-x_L* expression in vivo in rheumatoid synovium. *Clin. Rheumatol.* 2006; 25(6): 789–793. <https://doi.org/10.1007/s10067-005-0191-0>
77. Wu J., Feng Z., Chen L., Li H., Bian H., Geng J., et al. TNF antagonist sensitizes synovial fibroblasts to ferroptotic cell death in collagen-induced arthritis mouse models. *Nat. Commun.* 2022; 13: 676. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27948-4>
78. Bolduc J.A., Collins J.A., Loeser R.F. Reactive oxygen species, aging and articular cartilage homeostasis. *Free Radic. Biol. Med.* 2019; 132: 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.08.038>
79. Kan S., Duan M., Liu Y., Wang C., Xie J. Role of mitochondria in physiology of chondrocytes and diseases of osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Cartilage.* 2021; 13(Suppl 2): 1102–21. <https://doi.org/10.1177/19476035211063858>
80. Hitchon C.A., El-Gabalawy H.S. Oxidation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2004; 6(6): 265–78. <https://doi.org/10.1186/ar1447>
81. Matsuda K., Shiba N., Hiraoka K. New insights into role of synovial fibroblasts leading to joint destruction in rheumatoid arthritis. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(6): 5173. <https://doi.org/10.3390/ijms24065173>
82. Burrage P.S., Mix K.S., Brinckerhoff C.E. Matrix metalloproteinases: role in arthritis. *Front. Biosci.* 2006; 11: 529–43. <https://doi.org/10.2741/1817>
83. Ye W., Zhu S., Liao C., Xiao J., Wu Q., Lin Z., et al. Advanced oxidation protein products induce apoptosis of human chondrocyte through reactive oxygen species-mediated mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress pathways. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2017; 31(1): 64–74. <https://doi.org/10.1111/fcp.12229>
84. Tao H., Ge G., Liang X., Zhang W., Sun H., Li M., et al. ROS signaling cascades: dual regulations for osteoclast and osteoblast. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai).* 2020; 52(10): 1055–62. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmaa098>

Сведения об авторах:

Рыкунова Анна Яковлевна, канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России, e-mail: zveranna@mail.ru;

Зверев Яков Федорович, доктор мед. наук, проф. каф. фармакологии им. проф. В.М. Брюханова ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России.

Сергеева Е.Ю.

Жидкостная биопсия: перспективы применения у пациентов со злокачественной меланомой

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, 660022, Красноярск, Россия, ул. Партизана Железняка, д. 1

Жидкостная биопсия – метод, который в последние годы, часто применяют как альтернативу традиционной тканевой биопсии. У жидкостной биопсии есть целый ряд преимуществ – неинвазивность, более короткое время, необходимое для исследования, высокая чувствительность, возможность мониторинга эволюции и гетерогенности злокачественной опухоли, мониторинга эффективности воздействия лекарственных препаратов в режиме реального времени. Применение жидкостной биопсии особенно актуально при таких злокачественных новообразованиях, как меланома, когда проведение традиционной биопсии может быть затруднено. Цель обзора – обобщить информацию о различных вариантах жидкостной биопсии, проанализировать преимущества и недостатки использования циркулирующих опухолевых клеток, циркулирующей опухолевой ДНК и внеклеточных везикул для данного метода. Материалами послужили результаты исследований по данной теме отечественных и зарубежных авторов и собственные опубликованные данные за последние 27 лет, с 1997 по 2024 г. В статье обобщены современные данные о различных видах жидкостной биопсии. Для жидкостной биопсии используются циркулирующие опухолевые клетки, циркулирующая опухолевая ДНК и внеклеточные везикулы. Рассматриваются современные методы выделения циркулирующих опухолевых клеток и дальнейшего анализа ДНК, РНК, протеома. В обзоре проведен анализ современных методов детекции циркулирующей опухолевой ДНК, проанализированы их преимущества и недостатки. Внеклеточные везикулы – это гетерогенная группа выделяемых различными клетками пузырьков, защищенных от внешнего окружения двойной липидной мембраной. Для использования внеклеточных везикул при проведении жидкостной биопсии необходимо их выделить и провести дальнейший анализ их содержимого, белков и нуклеиновых кислот. В обзоре проанализированы наиболее эффективные современные методы их выделения и анализа, а также показаны преимущества использования внеклеточных везикул для жидкостной биопсии. Таким образом, применение жидкостной биопсии может помочь решить целый ряд задач при диагностике и лечении пациентов с меланомой.

Ключевые слова: жидкостная биопсия; меланома; внеклеточные везикулы

Для цитирования: Сергеева Е.Ю. Жидкостная биопсия: перспективы применения у пациентов со злокачественной меланомой. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2025; 69(3): 113–120.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.113-120

Для корреспонденции: Сергеева Екатерина Юрьевна, e-mail: e.yu.sergeeva@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело финансовой поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.02.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Sergeeva E.Yu.

Liquid biopsy: Prospects for use in patients with malignant melanoma

Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, 1 Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

Liquid biopsy is a method that has been frequently used in recent years as an alternative to traditional tissue biopsy. Liquid biopsy has a number of advantages, including non-invasiveness, a shorter analysis time, high sensitivity, and the opportunity of monitoring of tumor evolution and heterogeneity and real-time drug effectiveness. The use of liquid biopsy is especially important in malignancies, including melanoma, where traditional biopsy may be difficult. The aim of the review is to summarize the information about various methods of liquid biopsy and to assess the advantages and disadvantages of using circulating tumor cells, circulating tumor DNA and extracellular vesicles in this method. The materials were the data reported by Russian and international studies as well as our data published during the past 27 years, from 1997 through 2024. The article summarizes modern data on different types of liquid biopsy. The method of liquid biopsy uses circulating tumor cells, circulating tumor DNA, and extracellular vesicles. The review addresses modern methods of circulating tumor cell isolation and further DNA, RNA and proteome analysis. Also, this review focuses on

modern methods of circulating DNA detection and their advantages and disadvantages. Extracellular vesicles are heterogeneous, as secreted by various cells and protected from the external environment by a double lipid membrane. The use of extracellular vesicles for liquid biopsy requires their isolation followed by analysis of their content, proteins and nucleic acids. The review discusses the most effective modern methods of extracellular vesicle isolation and analysis along with the advantages of their use for liquid biopsy. Thus, the use of liquid biopsy can help solving various tasks in diagnostics and treatment of patients with malignant tumors, including melanoma.

Keywords: liquid biopsy; melanoma; extracellular vesicles

For citation: Sergeeva E.Yu. Liquid biopsy: prospects for use in patients with malignant melanoma. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(3): 113–120. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.113-120

For correspondence: Ekaterina Yu. Sergeeva, Doctor of biological sciences, prof. of the Department of pathological physiology, Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation, e-mail: e.yu.sergeeva@mail.ru

Information about the author:

Sergeeva E.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-2089-6022>

Financing. The study had no sponsorship.

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

Received 24.02.2025

Accepted 25.08.2025

Published 30.09.2025

Введение

В последние годы стало понятно, что традиционное использование для молекулярного профайлинга опухолей образцов ткани, полученных при резекции опухоли недостаточно удобно и информативно. Это связано не только с техническими сложностями при получении тканей опухолей определенных локализаций, но прежде всего, с опухолевой гетерогенностью. Поэтому всё более широко стали применять жидкостную биопсию (ЖБ), имеющую, по сравнению с традиционным подходом, множество преимуществ [1]. К числу таких преимуществ относится неинвазивность ЖБ, в то время как тканевая биопсия (ТБ) – инвазивное вмешательство. Время, необходимое для ЖБ, меньше, чем требуется для ТБ. ЖБ позволяет проводить мониторинг эволюции злокачественной опухоли, мониторинг эффективности воздействия лекарственных препаратов в режиме реального времени, выявлять пространственную и временную гетерогенность злокачественного новообразования [2]. Для проведения ЖБ могут быть использованы кровь, моча, асцитическая жидкость, жидкость из плевральной полости и ликвор. Анализируют циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), циркулирующую опухолевую ДНК (цоДНК) или внеклеточные везикулы (ВВ) (рис. 1). В отличие от ТБ, при которой анализируется ткань только определенного участка опухоли, возможность исследовать ЦОК, цоДНК и ВВ позволяет выявить не только все клоны опухолевых клеток и изменения этих клонов по мере развития опухоли, но и индивидуальные характеристики клеток каждого клона.

Существуют такие виды злокачественных новообразований, при которых использование ЖБ может приобрести особую значимость. К числу таких заболеваний относятся злокачественные новообразования легких и меланома ряда локализаций. Количество случаев меланомы экспоненциально увеличивается, что может быть связано с целым рядом факторов, в том числе, метаболическими нарушениями [3]. Кроме того, показатели смертности при меланоме превышают таковые при других формах кожных злокачественных новообразований, меланома быстро начинает метастазировать в другие ткани и органы [4].

В данном обзоре рассмотрены различные виды биологических материалов, исследуемых с помощью жидкостной биопсии, проанализированы наиболее эффективные подходы применительно к диагностике, мониторингу и персонализированному лечению злокачественной меланомы.

Исследование ЦОК при проведении ЖБ

Источником ЦОК является первичная опухоль. Отделившись от неё, клетки попадают в систему циркуляции крови и образуют метастазы в отдаленных от первичной опухоли органах и тканях [5]. Не вызывает сомнений, что исследование морфологических особенностей опухолевых клеток может помочь выявить важные механизмы воздействия целого ряда факторов на опухолевый рост и прогрессию [6]. Известно, что морфологические особенности ЦОК могут варьировать в зависимости от стадии заболевания [7]. Для того, чтобы предотвратить воздействие окислительного стресса и клеток иммунной про-

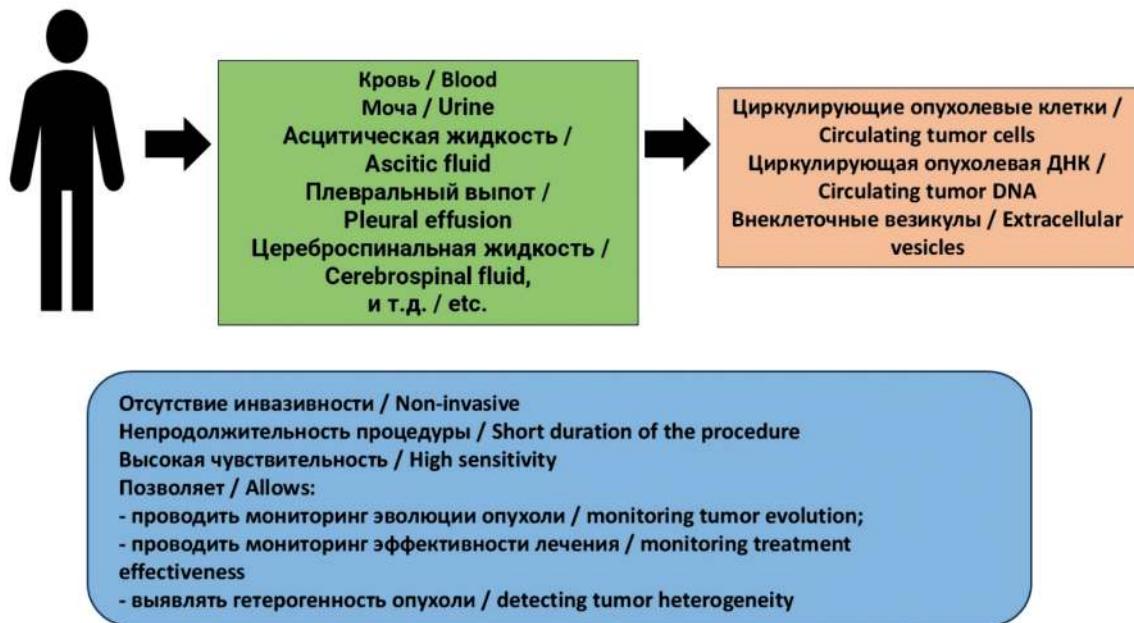


Рис. 1. Преимущества ЖБ при сравнении с ТБ.

Fig. 1. Advantages of LB over TB.

воопухоловой защиты, ЦОК могут образовывать агрегаты с другими клетками крови, и, в виде опухолового эмбола, более быстро достигать мест, где будут образованы метастазы. Важную роль в предотвращении гибели ЦОК путем аноикиса, являющегося вариантом апоптоза, играет взаимодействие их с тромбоцитами [8]. Важным преимуществом анализа ЦОК является исследование состояния опухоли в режиме реального времени, что помогает выбрать более эффективную терапию. Следует отметить, что количество ЦОК, как правило, крайне незначительно – одна ЦОК на один миллион лейкоцитов [9].

Первым этапом при проведении ЖК с использованием ЦОК является их выделение. Существуют методы, основанные на иммуноаффинности опухоловых клеток, ассоциированные с положительным или отрицательным обогащением, а также опирающиеся на биологические особенности опухоловых клеток – их размер или плотность [10].

При положительном обогащении захват ЦОК может быть ориентирован на специфические биомаркеры, расположенные на поверхности опухоловых клеток. Тем не менее, многообразие антигенов опухоловых клеток вносит определенные сложности в данный подход. При отрицательном обогащении удаляются неопухоловые клетки, а оставшаяся популяция опухоловых клеток является гетерогенной. Методы, основанные на биологических особенностях опухоловых клеток, чаще всего ориентированы

на то, что размер ЦОК, как правило, превышает размер неопухоловых клеток [11]. После выделения ЦОК проводят анализ ДНК, РНК, протеома при помощи различных современных методов исследования, включающих разнообразные модификации ПЦР, флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH), секвенирование и др.

В последнее время все чаще применяют сочетание различных методик. Так, использование комбинированного подхода, включающего секвенирование нового поколения Next Generation Sequencing (NGS), капельный метод цифровой ПЦР droplet digital PCR и FDA-cleared platform CellSearch позволило, при исследовании циркулирующих клеток меланомы, проводить мониторинг гетерогенности опухоли. Это может стать критерием для изменения схем лечения и подключения иммунотерапии второй линии и комбоиммунотерапии при снижении эффективности таргетных препаратов [12]. При проведении жидкостной биопсии с использованием сочетания иммуномагнитного выделения клеток, экспрессионной панели и двух видов ПЦР – вложенной ПЦР и ПЦР в режиме реального времени было установлено, что повышение экспрессии CD 146 в циркулирующих клетках меланомы при проведении иммунотерапии было ассоциировано с так называемой псевдопрогрессией заболевания, обусловленной развитием воспаления и усилением инфильтрации опухоли активированными иммунокомпетентными клетками [13].

Исследование цоДНК при проведении ЖБ

Циркулирующая опухолевая ДНК составляет всего лишь от 0,1 до 10% от всей циркулирующей внеклеточной ДНК (цвДНК). В норме уровень цвДНК в плазме крови составляет 10–100 нг/мл [14]. Существует достаточно много источников цвДНК, повышение ее происходит при некрозе либо апоптозе, при лизисе опухолевых клеток, есть так называемая «метаболическая» ДНК, источником которой могут быть активированные лимфоциты, «экзогенная ДНК» инфекционных агентов и др. Известно, что воспаление и физическая активность тоже могут способствовать повышению уровня цвДНК [15]. Установлено, что уровень цоДНК во многом обусловлен локализацией злокачественной опухоли, стадией заболевания и ответом организма на противоопухолевую терапию – F. Diehl et al. 2008 [16].

Для определения содержания цоДНК/цвДНК используется ряд технологий, к которым относятся капельный метод цифровой ПЦР (ddPCR), метод гранул, эмульсии, амплификации, магнетизма (BEAMing), при котором используется сочетание эмульсионной ПЦР и проточной цитометрии, глубокое секвенирование меченых ампликонов (TAm-Seq), персонализированный профайлинг опухоли методом глубокого секвенирования (CAPP-Seq), бисульфитное секвенирование всего генома (WGBS-Seq), полноэкзомное (WES) и полногеномное (WGS) секвенирование.

ddPCR можно использовать при выявлении заранее известных редких мутаций и подсчета количества копий, содержащихся в 0,01–1% генетического материала. Так, для более эффективного использования *BRAF*/MEK ингибиторов, было проведено исследование цоДНК/цвДНК методом ddPCR у пациентов с метастазирующей меланомой. Выявили мутации *BRAF*, *NRAS*, *TP53*, *GNAS* и *MET*, что позволило персонифицировать терапевтический подход [17]. Использование ddPCR для сравнения интермиттирующего и обычного дозирования дабрафениба и траметиниба у пациентов с прогрессирующей меланомой позволило сделать вывод об отсутствии ожидаемых результатов у исследуемых пациентов [18].

BEAMing тоже используется для выявления заранее известных мутаций. К преимуществам этого метода относятся низкая стоимость и высокая чувствительность, позволяющая выявлять мутации в 0,01% генетического материала [19].

Чувствительность метода TAm-Seq составляет ~ 97%, он позволяет выявлять мутации, содержащиеся не менее, чем в 2% генетического материала, позволяет проводить одновременное секвенирование миллионов молекул ДНК, но требует предварительного определения анализируемых мутаций.

CAPP-Seq позволяет определять мутации цоДНК/цвДНК, используя большие геномные библиотеки и генные сигнатурные отдельных пациентов. Выявляются специфические для каждого пациента генетические альтерации, идентифицируются множественные разнообразные мутации у пациентов с одним и тем же типом злокачественного образования, что позволяет оценить гетерогенность опухолей. Этот метод может быть использован для самой ранней диагностики опухолей. Он позволяет выявлять инсерции, делеции, однонуклеотидные варианты, вариации числа копий генов, генетические перестановки, но не фузии (слияния) генов. У пациентов с метастатической меланомой этот метод позволил определить мутации *BRAF*, *NRAS*, *TP53*, *GNAS* и *MET* как потенциальные маркеры заболевания, что подтвердило значимость использования ЖБ в случаях, когда проведение ТБ затруднено [17]. Использование CAPP-Seq для персонализированного профайлинга у пациентов с IV стадией меланомы позволило установить, что высокий уровень цоДНК коррелирует с низкой выживаемостью пациентов, а снижение уровня цоДНК ассоциировано с более благоприятным прогнозом. Кроме того, благодаря этому методу были выявлены альтернативные мутации в генах рецептора фактора роста сосудистого эндотелия, рецептора эпидермального фактора роста, фосфатидилинозитол-3-киназы/АКТ, mTOR, ALK/MET, циклин-зависимой киназы 4/6 у пациентов с *BRAF*-негативной меланомой, что позволило персонализировать таргетную терапию [20].

Полноэкзомное секвенирование позволяет проанализировать все присутствующие в опухоли мутации, идентифицировать потенциальные онкогены и онкосупрессоры, но чувствительность этого метода ниже, чем у вышеупомянутых. Полногеномное секвенирование способно помочь проанализировать весь геном, провести сравнительную характеристику значимости как заранее известных мутаций, так и мутаций с неясной значимостью в канцерогенезе, но этот метод имеет ряд недостатков, к числу которых относятся высокая стоимость и сложность интерпретации данных [21]. WGBS-Seq является золотым стандартом для анализа метилирования ДНК, но, так как существуют разные степени деградации ДНК, обусловленные метилированием, чувствительность этого метода имеет ограничения [22, 23].

Таким образом, каждый из вышеупомянутых методов имеет свои преимущества и ограничения. Поэтому, в последние годы, исследователи стали использовать различные комбинации методических подходов. Так, использование комбинированного подхода, включающего секвенирование нового поколения Next Generation Sequencing (NGS), капельный метод цифровой ПЦР droplet digital PCR и FDA-cleared platform CellSearch позволило, при исследовании циркулирующей опухолевой ДНК и циркулирую-

ших клеток меланомы, проводить мониторинг гетерогенности опухоли, что может стать основанием для изменения схем лечения и подключения иммунотерапии второй линии и комбоиммунотерапии при снижении эффективности таргетных препаратов [12].

При одновременном проведении жидкостной биопсии с анализом циркулирующей опухолевой ДНК, при использовании секвенирования нового поколения и ПЦР-анализа ДНК выделенной из формалин-фиксированных парaffинизированных образцов ткани меланомы, полученной от пациентов с прогрессирующей опухолью были установлены мутации генов *CTNNB1* и *TP53*, играющие важную роль в резистентности как к таргетной терапии ингибиторами *BRAF* и *MEK*, так и к иммунотерапии заболевания, что, предположительно, связано с блокадой апоптоза опухолевых клеток [24].

Комбинированное использование детекции *BRAFV600* мутаций в трех вариантах – в ткани опухоли и при проведении жидкостной биопсии с анализом циркулирующей опухолевой ДНК и внеклеточных везикул – было более эффективным для выявления мутационного статуса опухоли. Это связано с тем, что вследствие гетерогенности опухоли, результаты обычной биопсии были недостаточно корректными. Сочетание вышеупомянутых методов позволило применить персонифицировать терапию и более точно прогнозировать развитие болезни [25].

Исследование внеклеточных везикул при проведении ЖБ

Внеклеточные везикулы – это гетерогенная группа пузырьков, выделяемых различными клетками и защищенных от внешнего окружения двойной липидной мембраной. Размер ВВ, как правило, находится в диапазоне 30–60 нм, они содержатся в различных жидкостях человеческого организма, включая кровь, плазму, мочу, цереброспинальную жидкость [26]. Уже не вызывает сомнений то, что ВВ играют важнейшую роль в различных межклеточных коммуникациях. Их взаимодействие с клеткой-реципиентом осуществляется путем эндоцитоза, фагоцитоза, прямого слияния или связывания с рецептором и может быть одним из ключевых событий развития метастазов. ВВ содержат множество биомолекул, включающих ДНК, РНК, белки, ферменты. Содержащиеся во ВВ миРНК могут иметь важное значение в патогенезе злокачественного новообразования. Так, при проведении жидкостной биопсии плазмы крови пациентов с метастазирующей меланомой, с использованием высокопродуктивного, основанного на ПЦР метода профайлинга миРНК, было установлено повышение экспрессии miR-412-3p, miR-507 и miR-1203, содержащихся в экзосомах. Данные миРНК способны связываться с 3'UTR гена *TNFSF4*, что приводит к сниже-

нию синтеза иммунорегуляторного белка OX40L. Таким образом, данные полученные при проведении жидкостной биопсии подтверждают иммуносупрессивную роль miR-412-3p, miR-507 и miR-1203 при прогрессировании меланомы [27].

В селекции содержимого ВВ важную роль играют окисление и другие редокс-зависимые процессы, а, значит и факторы про- и антиоксидантной системы, принимающие участие в регуляции окислительного стресса, воспаления и канцерогенеза [28, 29].

Исследование ВВ при проведении ЖБ имеет целый ряд преимуществ. Прежде всего, количество ВВ в 1 мл составляет приблизительно 10^9 , в то время как количество ЦОК исчисляется единицами. ВВ секретируются живыми клетками и отражают многообразную информацию о клетках, от которых они произошли, источником же цДНК являются апоптотические или погибшие опухолевые клетки. Кроме того, наличие у ВВ двуслойной липидной мембранны делает ВВ более стабильными к воздействию факторов опухолевого микроокружения и позволяет увеличить время хранения образцов, предшествующее изоляции и детекции ВВ [30] (рис. 2).

Первым этапом жидкостной биопсии с использованием ВВ является их выделение. К традиционным методам выделения ВВ относят ультрацентрифугирование, включающее дифференциальное и градиентное центрифугирование. При проведении дифференциального центрифугирования использование различных скоростей процесса позволяет провести разделение содержимого исследуемого образца и выделить ВВ. При градиентном ультрацентрифугировании происходит разделение исследуемого образца на слои, различной плотности, ВВ содержатся в слое 1,15–1,19 г/мл [31].

Ультрафильтрация – метод, ориентированный на размер выделяемых образований, при котором используют мембранные фильтры с порами [32]. Для проведения пропитации используют высокогидрофильный полимер, взаимодействующий с молекулами воды, окружающими мембрану ВВ [33]. К новым методам относят метод, основанный на иммуноаффинности/иммуномагнетизме, метод разделения на основе физических признаков, метод выделения с использованием липидов мембран ВВ, метод акустической изоляции, термофоретический метод и ряд других [30].

Согласно стандарту, для идентификации ВВ необходимо использовать вестерн-блоттинг верификацию и не менее двух методов, позволяющих охарактеризовать единичные ВВ [34]. Осуществляется оценка как визуальных характеристик различными методами электронной микроскопии [35] так и количественных характеристик методами, включающими метод динамического рассеяния све-

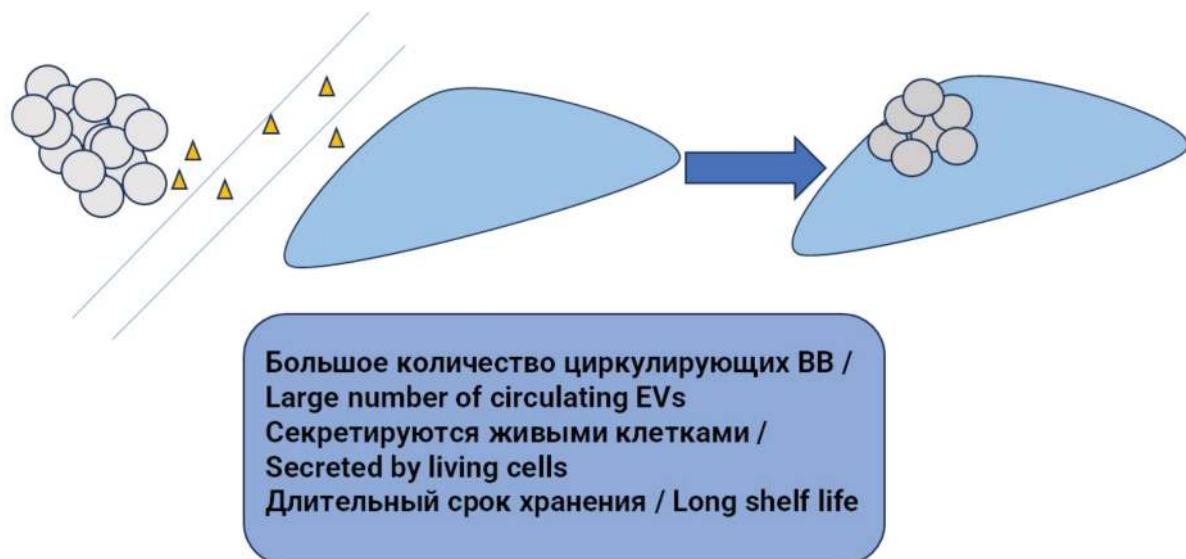


Рис. 2. Роль ВВ в контексте метастазирования и преимущества их использования для ЖБ.

Fig. 2. The role of EVs in the context of metastasis and the benefits of their use for LB.

та, анализ отслеживания наночастиц, настраиваемое резистивное импульсное зондирование [36, 37].

Для анализа белков, содержащихся в мембранах и цитоплазме ВВ существуют как традиционные, так и новые методы. К традиционным методам относятся вестерн-блоттинг и ферментно-связанный иммunoсорбентный анализ (ELISA). Новые методы включают колориметрическую детекцию, флюoresцентную детекцию, электрохимическую детекцию, детекцию поверхностного плазмонного резонанса и ряд других методов [38–40].

К традиционным методам исследования белков ВВ относятся ПЦР в режиме реального времени с обратной транскрипцией, ДНК-микрочипирование (микроэррэй) и секвенирование нового поколения [41]. Тем не менее, каждый из этих методов имеет свои недостатки. При помощи ПЦР можно анализировать только заранее известные последовательности, точность метода микроэррэй не всегда соответствует необходимой для проводимого исследования, а секвенирование нового поколения имеет высокую стоимость и определенные сложности при интерпретации полученных данных [41, 42]. Поэтому в последнее время появляются новые методы, к числу которых относятся метод цифровой капельной ПЦР, упомянутый выше, молекулярные маячковые зонды, ДНК – тетраэдрические зонды и ряд других методов [30, 43].

В целом, следует отметить, что есть ряд ограничений метода ЖБ для использования в клинической практике. Они включают невозможность гистологической оценки опухоли и отсутствие, на сегодняшний день, клинической

валидации, которая заключается в клинически подтвержденной аналитической эффективности метода.

Заключение

Таким образом, ЖБ может быть использована при проведении биопсии злокачественных новообразований, к числу которых относится и меланома, при которых затруднена традиционная тканевая биопсия. Важное значение ЖБ может иметь для ранней диагностики с детекцией потенциальных проонкогенных мутаций и прогноза дальнейшего развития заболеваний, ранней оценки ответа/резистентности при противоопухолевой терапии, в том числе, оценки ответа на иммунотерапию при использовании ингибиторов контрольных точек, общей оценки эффективности не только терапевтического, но и хирургического лечения. При помощи ЖБ можно осуществлять постоянную оценку и мониторинг опухолевой гетерогенности, что может сыграть ключевую роль в успешности проводимого лечения.

Литература (п.п. 1–5; 7–40; 42; 43 см. References)

6. Фефелова Ю.А., Жуков Е.Л., Сергеева Е.Ю., Михайлова А.К. Морфологические особенности экспериментальной меланомы В16 при ограничении калорийности питания. *Сибирское медицинское обозрение*. 2019; (6): 96–99. <https://doi.org/10.20333/2500136-2019-6-96-99>
41. Палкина Н.В., Зенайшвили Р.Д., Рукша Т.Г. Роль экзосом в диагностике и лечении иммуноопосредованных дерматозов, лече-

нии кожных ран и алопеции. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2024; 100(2): 8–17. <https://doi.org/10.25208/vdv11876>

References

1. Kopetz S., Murphy D.A., Pu J., Ciardiello F., Desai J., Van Cutsem E., et al. Molecular profiling of BRAF-V600E-mutant metastatic colorectal cancer in the phase3 BEACON CRC trial. *Nat Med.* 2024; 30(11): 3261–71. <https://doi.org/10.1038/s41591-024-03235-9>
2. Lone S.N., Nisar S., Masoodi T., Singh M., Rizwan A., Hashem S., et al. Liquid biopsy: a step closer to transform diagnosis, prognosis and future of cancer treatments. *Mol Cancer.* 2022; 21(1): 79. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01543-7>
3. Sergeeva E., Ruksha T., Fefelova Y. Effects of obesity and calorie restriction on cancer development. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(11): 9601. <https://doi.org/10.3390/ijms24119601>
4. Matthews N.H., Li W.Q., Qureshi A.A., Weinstock M.A., Cho E. Epidemiology of Melanoma. In: Ward W.H., Farma J.M., editors. *Cutaneous Melanoma: Etiology and Therapy* [Internet]. Brisbane (AU): Codon Publications; 2017. Chapter 1. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK481862>
5. Cherdynseva N.V., Litviakov N.V., Denisov E.V., Gervas P.A., Cherdynsev E.S. Circulating tumor cells in breast cancer: functional heterogeneity, pathogenetic and clinical aspects. *Exp Oncol.* 2017; 39(1): 2–11.
6. Fefelova Yu.A., Zhukov E.L., Sergeeva E.Yu., Mihaylova A.K. Morphological features of experimental B16 melanoma in case of food calories limitation. *Sibirskoe Meditsinsko Obozrenie.* 2019; (6): 96–99. <http://doi.org/10.20333/2500136-2019-6-96-99> (in Russian)
7. Lin D., Shen L., Luo M., Zhang K., Li J., Yang Q., et al. Circulating tumor cells: biology and clinical significance. *Signal Transduct Target Ther.* 2021; 6(1): 404. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00817-8>
8. Tang M., Zhang Z., Wang P., Zhao F., Miao L., Wang Y., et al. Advancements in precision nanomedicine design targeting the anoikis-platelet interface of circulating tumor cells. *Acta Pharm Sin B.* 2024; 14(8): 3457–75. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2024.04.034>
9. Young R., Pailler E., Billiot F., Drusch F., Barthelemy A., Oulhen M., et al. Circulating tumor cells in lung cancer. *Acta Cytol.* 2012; 56: 655–60. <https://doi.org/10.1159/000345182>
10. Bankó P., Lee S.Y., Nagygyörgy V., Zrínyi M., Chae C.H., Cho D.H., et al. Technologies for circulating tumor cell separation from whole blood. *J Hematol Oncol.* 2019; 12(1): 48. <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0735-4>
11. Hao S.J., Wan Y., Xia Y.Q., Zou X., Zheng S.Y. Size-based separation methods of circulating tumor cells. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018; 125: 3–20. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.01.002>
12. Scaini M.C., Catoni C., Poggiana C., Pigozzo J., Piccin L., Leone K., et al. A multiparameter liquid biopsy approach allows to track melanoma dynamics and identify early treatment resistance. *NPJ Precis Oncol.* 2024; 8(1): 78. <https://doi.org/10.1038/s41698-024-00567-0>
13. Rapanotti M.C., Cugini E., Nuccetelli M., Terrinoni A., Di Raimondo C., Lombardo P., et al. MCAM/MUC18/CD146 as a Multifaceted Warning Marker of Melanoma Progression in Liquid Biopsy. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(22): 12416. <https://doi.org/10.3390/ijms222212416>
14. Fleischhacker M., Schmidt B. Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer – A survey. *Biochim Biophys Acta.* 2007; 1775(1): 181–232. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2006.10.001>
15. Megquier K., Husted C., Rhoades J., White M.E., Genereux D.P., Chen F.L., et al. Impact of preanalytical factors on liquid biopsy in the canine cancer model. *bioRxiv.* 2024: 2024.07.29.605605. <https://doi.org/10.1101/2024.07.29.605605>
16. Diehl F., Schmidt K., Choti M.A., Romans K., Goodman S., Li M., et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med.* 2008; 14(9): 985–990. <https://doi.org/10.1038/nm.1789>
17. Kaneko A., Kanemaru H., Kajihara I., Mijiddorj T., Miyauchi H., Kuriyama H., et al. Liquid biopsy-based analysis by ddPCR and CAPP-Seq in melanoma patients. *J Dermatol Sci.* 2021; 102(3): 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2021.04.006>
18. Dayimu A., Gupta A., Matin R.N., Nobes J., Board R., Payne M., et al. A randomised phase 2 study of intermittent versus continuous dosing of dabrafenib plus trametinib in patients with BRAFV600 mutant advanced melanoma (INTERIM). *Eur J Cancer.* 2024; 196: 113455. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2023.113455>
19. Loree J.M., Dowers A., Tu D., Jonker D.J., Edelstein D.L., Quinn H., et al. Expanded Low Allele Frequency RAS and BRAFV600E Testing in Metastatic Colorectal Cancer as Predictive Biomarkers for Cetuximab in the Randomized CO.17 Trial. *Clin Cancer Res.* 2021; 27(1): 52–59. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-2710>
20. Aoude L.G., Brosda S., Ng J., Lonie J.M., Belle C.J., Patel K., et al. Circulating Tumor DNA: A Promising Biomarker for Predicting Recurrence in Patients with BRAF-Negative Melanoma. *J Mol Diagn.* 2023; 25(10): 771–781. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2023.06.014>
21. Imperial R., Nazer M., Ahmed Z., Kam A.E., Pluard T.J., Bahaj W., et al. Matched Whole-Genome Sequencing (WGS) and Whole-Exome Sequencing (WES) of Tumor Tissue with Circulating Tumor DNA (ctDNA) Analysis: Complementary Modalities in Clinical Practice. *Cancers.* 2019; 11(9): 1399. <https://doi.org/10.3390/cancers11091399>
22. Wardenaar R., Liu H., Colot V., Colomé-Tatché M., Johannes F. Evaluation of MeDIP-chip in the context of whole-genome bisulfite sequencing (WGBS-seq) in Arabidopsis. *Methods Mol Biol.* 2013; 1067: 203–24. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-607-8_13
23. Hon G.C., Hawkins R.D., Caballero O.L., Lo C., Lister R., Pelizzola M., et al. Global DNA hypomethylation coupled to repressive chromatin domain formation and gene silencing in breast cancer. *Genome Res.* 2012; 22(2): 246–58. <https://doi.org/10.1101/gr.125872.111>
24. Olbryt M., Rajczykowski M., Bal W., Fiszer-Kierzkowska A., Cortez A.J., Mazur M., et al. NGS Analysis of Liquid Biopsy (LB) and Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) Melanoma Samples Using Oncomine™ Pan-Cancer Cell-Free Assay. *Genes.* 2021; 12(7): 1080. <https://doi.org/10.3390/genes12071080>
25. García-Silva S., Vico-Alonso C., Meyer L., Enderle D., Sanchez J.A., Onteniente M.D.M., et al. Improved Sensitivity in BRAFV600E Detection in Combined Tissue and Extracellular Vesicle-Based Liquid Biopsy in Melanoma. *J Invest Dermatol.* 2023; 143(8): 1606–10. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2023.01.025>
26. Dobra G., Bukva M., Szabo Z., Bruszel B., Harmati M., Gyukity-Sebestyen E., et al. Small Extracellular Vesicles Isolated from Serum May Serve as Signal-Enhancers for the Monitoring of CNS Tumors. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(15): 5359. <https://doi.org/10.3390/ijms21155359>
27. Sabato C., Noviello T.M.R., Covre A., Coral S., Caruso F.P., Besharat Z.M., et al. A novel microRNA signature for the detection of melanoma by liquid biopsy. *J Transl Med.* 2022; 20(1): 469. <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03668-1>
28. Wei H., Chen Q., Lin L., Sha C., Li T., Liu Y., et al. Regulation of exosome production and cargo sorting. *Int J Biol Sci.* 2021; 17(1): 163–77. <https://doi.org/10.7150/ijbs.53671>

29. Sergeeva E.Yu., Dunaevskaya S.S., Deulina V.V., Fefelova Yu.A. Catalases: oxidative stress, inflammation and carcinogenesis. *Sibirskoe Meditsinskoе Obozrenie*. 2024; (4): 18–22.
30. Yu D., Li Y., Wang M., Gu J., Xu W., Cai H., et al. Exosomes as a new frontier of cancer liquid biopsy. *Mol Cancer*. 2022; 21(1): 56. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01509-9>
31. Vidal M., Mangeat P., Hoekstra D. Aggregation reroutes molecules from a recycling to a vesicle-mediated secretion pathway during reticulocyte maturation. *J Cell Sci*. 1997; 110(Pt 16): 1867–77. <https://doi.org/10.1242/jcs.110.16.1867>
32. Taylor D.D., Shah S. Methods of isolating extracellular vesicles impact down-stream analyses of their cargoes. *Methods*. 2015; 87: 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2015.02.019>
33. Weng Y., Sui Z., Shan Y., Hu Y., Chen Y., Zhang L., et al. Effective isolation of exosomes with polyethylene glycol from cell culture supernatant for in-depth proteome profiling. *Analyst*. 2016; 141(15): 4640–46. <https://doi.org/10.1039/c6an00892e>
34. Théry C., Witwer K.W., Aikawa E., Alcaraz M.J., Anderson J.D., Andriantsitohaina R., et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018; 7(1): 1535750. <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1535750>
35. Sharma S., Rasool H.I., Palanisamy V., Mathisen C., Schmidt M., Wong D.T., et al. Structural-mechanical characterization of nanoparticle exosomes in human saliva, using correlative AFM, FESEM, and force spectroscopy. *ACS Nano*. 2010; 4(4): 1921–6. <https://doi.org/10.1021/nn901824n>
36. Street J.M., Koritzinsky E.H., Glispie D.M., Star R.A., Yuen P.S. Urine Exosomes: An Emerging Trove of Biomarkers. *Adv Clin Chem*. 2017; 78: 103–22. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2016.07.003>
37. Bachurski D., Schuldner M., Nguyen P.H., Malz A., Reiners K.S., Grenzi P.C., et al. Extracellular vesicle measurements with nanoparticle tracking analysis – An accuracy and repeatability comparison between NanoSight NS300 and ZetaView. *J Extracell Vesicles*. 2019; 8(1): 1596016. <https://doi.org/10.1080/20013078.2019.1596016>
38. Xia Y., Liu M., Wang L., Yan A., He W., Chen M., et al. A visible and colorimetric aptasensor based on DNA-capped single-walled carbon nanotubes for detection of exosomes. *Biosens Bioelectron*. 2017; 92: 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.01.063>
39. Liu C., Xu X., Li B., Situ B., Pan W., Hu Y., et al. Single-Exosome-Counting Immunoassays for Cancer Diagnostics. *Nano Lett*. 2018; 18(7): 4226–32. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.8b01184>
40. Zeng S., Baillargeat D., Ho H.P., Yong K.T. Nanomaterials enhanced surface plasmon resonance for biological and chemical sensing applications. *Chem Soc Rev*. 2014; 43(10): 3426–52. <https://doi.org/10.1039/c3cs60479a>
41. Palkina N.V., Zenaishvili, R.D., Ruksha, T.G. The role of exosomes in the diagnostics and treatment of immune mediated skin disorders, wounds and alopecia. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2024; 100(2): 8–17. <https://doi.org/10.25208/vdv11876> (in Russian)
42. Gandham S., Su X., Wood J., Nocera A.L., Alli S.C., Milane L., et al. Technologies and Standardization in Research on Extracellular Vesicles. *Trends Biotechnol*. 2020; 38(10): 1066–98. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.05.012>
43. Mateescu B., Kowal E.J., van Balkom B.W., Bartel S., Bhattacharyya S.N., Buzás E.I., et al. Obstacles and opportunities in the functional analysis of extracellular vesicle RNA – an ISEV position paper. *J Extracell Vesicles*. 2017; 6(1): 1286095. <https://doi.org/10.1080/20013078.2017.1286095>

Сведения об авторе:

Сергеева Екатерина Юрьевна, доктор биол. наук, проф. каф. патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова ФГБОУ ВО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, e-mail: e.yu.sergeeva@mail.ru

Проблема

© Геворкян Н.М., 2025

УДК 616-092

Геворкян Н.М.

Биологический смысл наличия лимфоцитов в сперме. Гипотеза

ФГБНУ «НИИ биомедхимии им. В.Н. Ореховича», 119121, Москва, Россия, ул. Погодинская, д. 10

В статье предлагается решение все еще не выясненной проблемы, связанной с так называемым «иммунным парадоксом беременности», с природой толерантности в отношении полуаллогенного плода. Все-сторонний анализ обширного ряда функциональных эффектов, выявленных нами в процессе разнообразных исследований особенностей индуктивного, лечебного и профилактического действия экзогенной суммарной РНК лимфоидных клеток здоровых особей *in vivo*, а также способность суммарной РНК морфогенетических $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов к перепрограммированию патологических процессов и их нормализации, позволил выявить и уяснить истинную стратегию воздействий компонентов спермы при оплодотворении. Воспроизведенная таким путем умозрительная картина явила исключительно наглядной демонстрацией принципа организации эволюционирующих систем, сформулированного в 1965 году В.А. Геодакяном и состоящего в асинхронной эволюции бинарно-сопряженных подсистем, и так же гармонично согласуется с уникальными наблюдениями и на редкость смелым умозаключением А.А. Максимова (1909 год), согласно которому «в организме млекопитающих существует один вид клеток, лимфоциты... которые, в зависимости от разнообразия условий их обитания в организме эмбриона, выглядят по-разному и могут производить различные клетки-продукты дифференцировки». Наконец, предлагаемая здесь концепция позволяет ответить и на вопрос о происхождении предшественников Т-лимфоцитов в эмбриогенезе тимуса, который до сих пор не решен.

Ключевые слова: оплодотворение; «иммунный парадокс беременности»; толерантность; морфогенетические Т-лимфоциты; лимфоцитарная РНК; эмбриогенез; эмбриональные тимоциты

Для цитирования: Геворкян Н.М. Биологический смысл наличия лимфоцитов в сперме. Гипотеза. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2025; 69(3): 121–128

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.121-128

Для корреспонденции: Геворкян Нина Михайловна, e-mail: gevorkiann@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 годы) (№ 122022800499-5).

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 09.12.2024

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Gevorkyan N.M.

Biological significance of the presence of lymphocytes in semen. A hypothesis

Orehovich Research Institute of Biomedical Chemistry, 10 Pogodinskaya St., Moscow 119121, Russian Federation

The article proposes a solution to a still unclear problem of the so-called “immune paradox of pregnancy” and the nature of tolerance to a semi-allogeneic fetus. A comprehensive analysis of a wide range of functional effects that we have identified in various studies of the inductive, therapeutic and prophylactic action of exogenous total RNA of lymphoid cells from healthy individuals *in vivo*, as well as the ability of total RNA of morphogenetic $\gamma\delta$ -T-lymphocytes to reprogram and normalize pathological processes, has allowed us to reveal and clarify the true strategy of the effects of sperm components during fertilization. Thus, the obtained speculative picture appeared an exceptionally clear demonstration of the organization principle of evolving systems formulated in 1965 by V.A. Geodakyan. The principle is the asynchronous evolution of binary-conjugated subsystems, and it also harmoniously agrees with the unique observations and an exceptionally bold conclusion of A.A. Maksimov (1909) that “in the body of mammals there is one type of cells, lymphocytes... which, depending on the diversity of their living conditions in the body of the embryo, look different and can produce different cells, products of differentiation.” Finally, the con-

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.121-128

cept proposed here allows answering the question of the origin of T-lymphocyte precursors in the embryogenesis of the thymus, which has not yet been resolved.

Keywords: fertilization; "immune paradox of pregnancy"; tolerance; morphogenetic T-lymphocytes; lymphocyte RNA; embryogenesis; embryonic thymocytes

For citation: Gevorkyan N.M. Biological meaning of the presence of lymphocytes in semen. Hypothesis. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal).* 2025; 69(3): 121–128. (in Russian)

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.121-128

For correspondence: Nina M. Gevorkyan, e-mail: gevorkiann@yandex.ru

Information about the author:

Gevorkyan N.M., <https://orcid.org/0000-0002-0386-4010>

Funding. This work was done in the framework of the Russian Federation fundamental research Program for the long-term period for 2021–2030 (No 122022800499-5).

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

Received 09.12.2024

Accepted 25.08.2025

Published 30.09.2025

«... природа, когда её начинают видеть, расступается послушным простором, и в этом состоянии её, как сонную, тихо вносят на полотно».

Б. Пастернак

Статья с похожим названием, "The biological significance of white blood cells in semen", была опубликована в 1995 году [1]. В ней иммуноцитохимическим методом было показано, что среди лейкоцитов спермы гранулоциты составляют примерно 50–60%, макрофаги – 20–30%, Т-лимфоциты – 2–5%. Ранее тем же автором было обнаружено [2], что все три указанных типа клеток содержатся в эякуляте у всех мужчин, тогда как прежде считалось, что семенная жидкость способствует **лишь доставке** сперматозоидов для оплодотворения ооцитов.

Обнаружение лейкоцитов вызвало разногласия по поводу назначения этих клеток в составе спермы. Некоторые авторы полагали, что с лейкоцитами может быть связано мужское бесплодие, поскольку: (а) *in vitro* лейкоциты нарушили функцию сперматозоидов и их проникновение в яйцеклетки хомяка; (б) их количество в сперме было значительно выше у мужчин с бесплодием; и (в) лейкоцитоспермия (условно, более 10^6 лейкоцитов/мл спермы) ассоциировалась с уменьшением количества сперматозоидов и нарушением их подвижности, при этом удивляло то, что примерно 80% образцов лейкоцитоспермии были микробиологически отрицательными, и из-за отсутствия клинических симптомов определить происхождение лейкоцитов не удавалось. В то же время, другие исследователи никакого повреждения сперматозоидов при наличии лейкоцитоспермии не наблюдали, хотя в целом возможное влияние лейкоцитов на функцию сперматозоидов и не исключали [1].

Позже были обнаружены выраженные противовоспалительные свойства семенной жидкости, которые связывали

с наличием в ее составе лимфоцитов, участвующих в иммунных реакциях защиты мужских половых путей от восходящих патогенов, а высокое содержание Т-лимфоцитов-супрессоров в составе семенной жидкости – в установлении и поддержании в мужском организме иммунологической толерантности к сперматозоидам и в предотвращении аутоиммунных реакций на границе иммунологически изолированного мужского органа [3, 4]. То есть на протяжении нескольких десятков лет наличие лимфоцитов в сперме в основном связывали с их защитной функцией в отношении мужского полового тракта [5, 6, 7, 8].

Между тем, еще в середине прошлого столетия британским иммунологом Питером Медаваром был затронут вопрос о необъяснимой иммунологической толерантности беременных в отношении полуаллогенного плода – так называемый «иммунный парадокс беременности», связанный с развитием антигенно чужеродного плода в организме матери [9]. С тех пор, несмотря на большое количество исследований, причины того, почему материнский организм в норме не отторгает генетически отличающийся плод, вопрос этот, по сути, не утратил своей актуальности. Насколько удалось выяснить, ближе всех к разгадке подобрались австралийские ученые, с неизменным участием Сары Робертсон (Sarah A. Robertson), многолетние исследования которых [10–21] способствовали наиболее всестороннему пониманию явлений, предшествующих и сопутствующих имплантации оплодотворенной яйцеклетки в стенку матки.

Так, было показано, что у мышей через 4 дня после аллогенного спаривания с вазектомированными самцами про-

исходит активация лимфоцитов в парааортальных лимфатических узлах (PALN), дренирующих матку, с увеличением клеточности PALN в 1,7 раза по сравнению с девственным контролем. Это означает, что ни наличие оплодотворенной яйцеклетки, ни наличие сперматозоидов в эякуляте не требуется для индукции ответа иммунных клеток на имплантационной стадии развития зародыша [19]. Кроме того, эксперименты по адоптивному переносу через хвостовую вену меченых радиоактивным изотопом лимфоцитов, выделенных из PALN мышей B6 на 3-й день после их аллогоенного спаривания с самцами BALB/c, показал, что лимфоциты, активированные при осеменении, направляются к области имплантации эмбрионов в матке мышей-реципиентов B6 с 6-дневной беременностью, а также к другим слизистым оболочкам и лимфатическим узлам.

Интересное исследование было проведено с целью определения того, может ли воздействие спермы при спаривании привести к иммунологической гиперактивности или «толерантности» к отцовским антигенам. С использованием инбредных конгенных линий мышей изучали влияние воздействия спермы на иммунный ответ на отцовские антигены МНС класса I, определяя рост или отторжение отцовских опухолевых клеток, вводимых самке примерно во время имплантации эмбриона. Было обнаружено, что опухолевые клетки мышей Balb/c (H-2d), которые всегда отторгаются у девственных мышей Balb/k (H-2k), растут у самок мышей Balb/k, скрещенных с самцами-производителями Balb/c, даже если самки были стерилизованы путем перевязки соединения матки и маточных труб [11, 17]. Это открытие подтвердило, что воздействия спермы достаточно, чтобы вызвать специфическую гиперактивность к отцовским антигенам МНС класса I, независимо от того, наступит ли беременность. Реакция специфична, поскольку спаривание с сингенными самцами Balb/k или сторонними самцами не приводит к какой-либо потере устойчивости к опухоли.

Таким образом, на сегодняшний день выяснено, что у мышей после спаривания происходит активация и экспансия популяций материнских лимфоцитов парааортальных лимфатических узлов, которая запускается компонентами спермы, полученными из семенных пузырьков [19], и что «у человека свыше 700 генов дифференцированно экспрессируется в тканях шейки матки после взаимодействия с семенной жидкостью» [22]. Более того, женские лимфоциты дренирующих матку лимфатических узлов, активированные при осеменении [17, 21], могут способствовать установлению толерантности матери к зародышу в области имплантации [19]. **Невыясненными остаются клеточный и молекулярный механизмы индукции толерантности женских лимфоцитов к отцовским антигенам зародыша.**

Тем временем, в поисках возможности сохранения известных регенераторных свойств Т-лимфоцитов при их адоптивном переносе [23, 24], которая при этом не вызывала бы иммунной реакции отторжения у аллогоенной особи, нам удалось доказать, что таким свойством обладает субклеточная фракция суммарной РНК лимфоцитов [25–28]. На белых беспородных крысах было показано корректирующее действие суммарных РНК, выделенных из лимфоидных клеток бычьей, крысины или свиной селезенки, крысиного или свиного костного мозга или тимуса, или же из лимфоцитов периферической крови доноров, в отношении нарушенных функций организма экспериментальных животных [27, 29–34]. Указанные препараты РНК в полной мере (и даже с большей эффективностью и быстродействием [35]), воспроизводили все нюансы регенераторных свойств, которыми исходные лимфоидные клетки обладали в момент выделения из них РНК. Это открывает возможность беспрепятственного и эффективного введения не только аллогоенной, но и ксеногенной РНК лимфоидных клеток здоровых особей любому млекопитающему, включая человека, без необходимости подбора гистосовместимого донора [36].

Влияние экзогенных РНК на процесс морфогенеза в период эмбрионального развития было впервые исследовано M. Niu [37], который показал, что имплантация развивающимся головастикам эпидермальных культур, выращенных в присутствии РНК тимуса теленка, приводила к образованию у зародышей в этом месте полноценного тимуса, морфологически неотличимого от нормально развивающегося органа. Имплантированные контрольные культуры, выращенные без добавления РНК тимуса, через несколько недель бесследно исчезали.

Следует отметить также высокую стабильность эффектов, индуцируемых экзогенной РНК. Так, в дальнейших исследованиях M. Niu с соавторами [38, 39] было обнаружено, что экзогенная РНК, выделенная из мышевой печени, инициировала в клетках асцитной карциномы мышей синтез ряда не свойственных им веществ, одним из которых оказалась глюкозо-6-фосфатаза. Этот фермент синтезировала даже 244-я генерация асцитных клеток, то есть индукционный эффект экзогенной РНК поддерживался в клеточной линии на протяжении 21–29 пассажей [40, 41].

Клональная организация лимфоидной ткани дает иммунной системе замечательную возможность параллельного развития независимых индуктивных процессов. Согласно предлагаемой нами концепции, в многоклеточном организме совокупность клонов морфогенетически компетентных $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов представляет собой специализированную адаптивную гомеостатическую систему клональной регуляции пролиферации и дифференцировки со-

матических клеток каждого гистотипа в отдельности, где представители каждого клона являются прообразом соматических клеток своей ткани-мишени, ее подвижным прототипом [34, 42, 43, 44], образуя с ней «бинарно-сопряженную пару» [45]. Правомочность такого представления, помимо прочего, подтверждается тем, что на мембранах по-разному функционирующих тканеспецифичных клонов Т-лимфоцитов в совокупности обнаружены рецепторы к всевозможным продуцируемым в организме биологически активным веществам [27, 46–48], а сами Т-клетки способны все эти вещества, включая гормоны и факторы роста, характерные для клеток их тканей-мишней, синтезировать и секретировать [27, 49–53].

Более того, помимо клонов морфогенетических Т-лимфоцитов с локальной тканеспецифической направленностью их регуляторного действия, в организме, по-видимому, должно быть представлено еще великое множество клонов, «обслуживающих» отдельные участки таких протяженных тканей как кожа или слизистые оболочки [34, 54, 55], покрывающие наружные или внутренние поверхности, или, как сосуды, соединяющие органы и ткани всего организма, с плавно меняющимися дополнительными свойствами, с постепенной утратой одних рецепторов и антигенов клеточной поверхности и приобретением других, в зависимости от местоположения. Предполагаемый континуум превращений гистологически единой ткани и приобретение ею дополнительных свойств, в свете изложенной выше концепции, наводят на мысль о наличии в организме еще большего количества клонов морфогенетических лимфоцитов. Такому представлению способствует также тот факт, что в эпителиальных клетках мозгового слоя тимуса, где происходит селекция тканеспецифических Т-лимфоцитов, представлены не только тканеспецифичные антигены, но и продукты генов, экспрессируемых на разных стадиях дифференцировки каждой ткани. Экспрессия таких дифференцировочных антигенов свойственна также и отдельным клонам лимфоцитов [56], по-видимому, соответствующих разным стадиям дифференцировки их тканей-мишней. Позже постоянное наличие Т-лимфоцитов с неизменными эмбриональными рецепторами, с разнообразными дифференцировочными рецепторами и антигенами было подтверждено и в организме взрослых животных [57]. Все это характеризует иммунную систему как систему «с континуумом клонов и состояний их дифференцировки, где клетка каждого клона проявляет в данный момент ее жизненного цикла слегка уникальный набор характеристик, реализуемых ее геномом» [58, 59].

Далее, есть все основания полагать, что суммарная РНК лимфоидных клеток обладает тканеспецифичностью (то есть средством именно к лимфоидным клеткам). От-

носительно адресной доставки экзогенных РНК известно, что менее минуты инкубации достаточно, чтобы в лимфоидные клетки селезенки проникла гомологичная РНК, стимулируя их синтетическую активность, и что уже через 3 мин инкубации 3%, а через 15 мин – 8% радиоактивно меченой экзогенной РНК, выделенной из лимфоцитов периферической крови здоровых доноров, обнаруживается внутри аллогенных лимфоцитов и ксеногенных лимфоидных клеток селезенки мышей; кроме того, показано, что другие клетки, например, гранулоциты, такую лимфоидную РНК не поглощают [60–62]. Это подтверждают и наши исследования, когда, наряду с исключительной эффективностью экзогенного воздействия лимфоцитарных РНК *in vivo*, эти же препараты в культурах клеток, не содержащих лимфоцитов, не вызывали никаких эффектов.

К тому же, по-видимому, суммарная РНК лимфоидных клеток обладает не только ткане-, но и клоноспецифичностью. О клоноспецифичности компонентов в составе РНК лимфоидных клеток свидетельствуют результаты наших опытов, в которых внутривенное, внутрибрюшинное или интраназальное введение препаратов РНК, выделенной из общей популяции лимфоцитов селезенки или тимуса, из костного мозга или периферической крови, обеспечивают регенерацию функций самых разных органов и тканей [27, 33, 63]. То есть, очевидно, в этой системе клетки каждого тканеспецифического клона Т-лимфоцитов рецептина адресно воспринимают из экзогенной донорской лимфоидной РНК компонент, соответствующий их клональной принадлежности; в результате происходит клональная активация Т-лимфоцитов, вызывающая затем функциональные изменения в клетках их ткани-мишени, но не сопровождающаяся иммунной реакцией на чужеродное. На этом основании можно утверждать, что **суммарная РНК общей популяции лимфоцитов представляет собой оперативную составляющую генома всего организма**.

Более того, согласно нашим представлениям, **вся совокупность клонов Т-лимфоцитов памяти** в организме содержит полную историю онтогенетически и филогенетически значимых событий, являясь носителем подробной информации обо всех специфических изменениях, в разное время происходивших на уровне отдельных систем и всего организма в целом в процессе его жизнедеятельности.

Все вышеизложенное дает основания предполагать, что лимфоциты спермы, попадая в материнские половые пути и подвергаясь там деградации, передают через стенки сосудов лимфоцитам дренирующих матку лимфатических узлов РНК всевозможные клоны аллогенных отцовских лимфоцитов, в частности, тканеспецифических $\gamma\delta$ -Т-клеток [64]. Это, кстати, объясняет и появление так называемых **внешними** или **периферических**, ре-

гуляторных Т-клеток (pTreg) у плацентарных млекопитающих [65, 66].

Следовательно, можно предположить, что именно активированные в результате взаимодействия с отцовской лимфоцитарной РНК «гибридные», адаптированные клонами материнских Т-лимфоцитов, успевающие к моменту имплантации бластоциты произвести несколько циклов деления за время продвижения оплодотворенной яйцеклетки к матери, обеспечивают привилегию маточно-плацентарного иммунитета, способствуя установлению специфической (локальной) толерантности организма матери к отцовским антигенам зародыша. Более того, по всей видимости, эти же лимфоциты и осуществляют регуляцию последующих этапов пролиферации и дифференцировки клеток зародыша, задавая дальнейшую программу его нормального роста и развития. Эта идея тем более привлекательна, что вопрос об источнике предшественников Т-лимфоцитов в эмбриогенезе тимуса до сих пор не решен [67]!

Описанная схема согласуется и с наблюдениями А.А. Максимова, позволившими ему еще в 1909 году публично заявить, что «в организме млекопитающих существует один вид клеток, лимфоциты в наиболее широком смысле слова... – повсеместно встречающиеся, недифференцированные, полиморфные, блуждающие мезенхимные клетки, которые, в зависимости от разнообразия условий их обитания в организме эмбриона, выглядят по-разному и могут производить различные клетки-продукты дифференцировки» [68] – воззрение, которое более чем на полвека опередило развитие представлений о лимфоцитарной регуляции морфогенеза.

В результате вырисовывается картина, наглядно и убедительно иллюстрирующая до сих пор не воспринятую научным сообществом идею **асинхронной** эволюции бинарных биологических систем как определяющий принцип их организации, сформулированный в 1965 году В.А. Гедакяном, автором эволюционных теорий пола, асимметрии мозга и тела, и эволюционной роли половых хромосом: **Любая эволюционирующая система на любом уровне организации делится на консервативную и оперативную составляющие, образуя сопряжённую пару, повышающую её устойчивость** [45, 69, 70]. То есть описанная выше предполагаемая схема образования и развития зародыша включает в себя, с одной стороны, оплодотворение сперматозоидом яйцеклетки, обеспечивающее ядерный материал образовавшейся клетки полным набором хромосом (консервативная подсистема), а с другой – «оплодотворение» материнских лимфоцитов рибонуклеиновой кислотой спермальных лимфоцитов, обеспечивающее **толерантность и адаптацию** иммунной системы матери к антигенам аллогенного зародыша (оперативная подсистема), что **позволяет** образовавшимся гибридным

Т-лимфоцитам материнского организма осуществлять регуляцию дальнейшего развития гибридной (химерной) оплодотворенной яйцеклетки.

Доказать правильность предлагаемой здесь гипотезы совсем не трудно при наличии экспериментальных возможностей. В случае подтверждения это будет иметь не только познавательное значение, но и практический выход в связи с возможностью коррекции целого ряда проблем, связанных с беременностью и вынашиванием плода, включая и искусственное оплодотворение, успешность которого можно будет существенно повысить путем введения РНК отцовских лимфоидных клеток. Возможный отказ от гормональной стимуляции также может оказаться большим облегчением для женщин, подвергающихся экстракорпоральному оплодотворению.

Литература (пп. 1-21; 37-39; 44; 46-48; 55-57; 60; 61; 64-66; 68 см. References)

22. Полетаев А.Б., Чурилов Л.П. *Иммунология здоровья и болезни. Простые ответы на сложные вопросы*. С.-П. 2021. 264 с.
23. Бабаева А.Г. Морфогенетические свойства лимфоцитов и их значение для регенерации органов. *Тез. докл. Физиология и патология соединительной ткани*. Новосибирск. 1980; 1: 4-5.
24. Краскина Н.А., Вегер Е.М., Гуторова Н.М., Бляхер М.С., Бабаева А.Г., Харлова Г.В. и др. Контролирующее влияние Т-лимфоцитов-супрессоров на пролиферацию клеток в различных тканях. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1988; 105(5): 464-6.
25. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тищевская Н.В., Комарова И.А. Влияние препаратов суммарной РНК лимфоидных клеток селезенки крыс на эритропоэз *in vitro*. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2014; 4(12): 35-9.
26. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тищевская Н.В., Комарова И.А. Влияние препаратов суммарной РНК лимфоидных клеток селезенки на эритропоэз в культуре эритробластических островков крыс с полицитемией. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2014; 4 (12): 40-3.
27. Бабаева А.Г., Тищевская Н.В., Геворкян Н.М. О морфогенетических свойствах РНК лимфоидных и стволовых клеток при восстановительных процессах. М., 2016.
28. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тищевская Н.В. *Очерки об особенностях изучения эффектов РНК и об РНК-терапии*. М., 2019.
29. Бабаева А.Г., Тищевская Н.В., Геворкян Н.М., Головнева Е.С., Максаков Д.А. Регресс экспериментальной гиперплазии предстательной железы под действием лимфоцитарных и органных РНК. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2018; №1 (25): 61-6.
30. Геворкян Н.М., Тищевская Н.В., Болотов А.А. Влияние предварительного введения суммарной РНК клеток костного мозга на динамику восстановления эритропоэза у крыс после острого гамма-облучения. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016; 161(5): 670-3. <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3494-z>
31. Тищевская Н.В., Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Захаров Ю.М. Коррекция постлучевых нарушений эритропоэза суммарной РНК клеток костного мозга и тимуса. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2017; 57(4): 384-90. <https://doi.org/10.7868/S086980311704004X>

32. Тишевская Н.В., Бабаева А.Г., Геворкян Н.М. Сравнительный анализ гемопоietической активности суммарной РНК костного мозга и лимфоидных клеток селезенки при хронической бензольной анемии у крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2019; 63(2): 56–64. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2019.02.56-64>
33. Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Бабаева А.Г. Роль суммарных РНК лимфоидных и стволовых клеток в коррекции уровня глюкозы в крови при экспериментальном сахарном диабете. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2019; 63(3): 88–95. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2019.03.88-95>
34. Геворкян Н.М., Тишевская Н.В. Патогенез как проблема функциональной несостоимости и дисбаланса в популяции Т-лимфоцитов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2021; 65(2): 109–19. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2021.02.109-119>
35. Гоникова З.З., Никольская А.О., Кирсанова Л.А., Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Севастьянов В.И. и др. Сравнительный анализ эффективности стимуляции процессов регенерации печени клетками костного мозга и общей РНК этих клеток. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21(1): 113–21. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2019-1-113-121>
36. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Головкина Л.Л., Муратова Ю.О., Рагимов А.А. О гемопоietических свойствах рибонуклеиновой кислоты лимфоцитов периферической крови больных истинной полицитемией и здоровых доноров. *Онкогематология*. 2015; 10(2): 58–62.
40. Белоус А.М., Годин В.П., Панков Е.Я. *Экзогенные нуклеиновые кислоты и восстановительные процессы*. М.: Медицина, 1974.
41. Смирнов А.В. Специфические эффекты и возможные механизмы действия экзогенных РНК. *Успехи современной биологии*. 1988; 106(116): 20–36.
42. Геворкян Н.М. Повышение эффективности терапии стволовыми клетками при содействии суммарных РНК лимфоцитов здоровых доноров. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2023; 67(3): 124–36. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.03.124-136>
43. Геворкян Н.М. Альтернативные возможности коррекции и профилактики наследственных и врожденных патологий путем перепрограммирования клеток *in vivo* с помощью суммарных РНК лимфоцитов здоровых особей. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2024; 68(3): 85–94.
45. Геодакян В.А. О дифференциации систем на две сопряженные подсистемы. В кн.: *Проблемы биокибернетики. Управление и информационные процессы в живой природе*. М., Наука, 1971.
49. Тишевская Н.В., Бабаева А.Г., Геворкян Н.М. Роль лимфоцитарных РНК в межклеточном информационном обмене и регуляции регенеративных процессов. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2016; 102(11): 1280–1301.
50. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Т-лимфоциты и тканевые факторы роста. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2015; 101(8): 865–84.
51. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Роль Т-лимфоцитов в гормональной регуляции морфогенетических процессов. *Успехи современной биологии*. 2015(6): 135(2): 189–202.
52. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Современный взгляд на роль Т-лимфоцитов в регуляции эритропоэза. *Успехи современной биологии*. 2016; 136(1): 81–95.
53. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. О чувствительности Т-лимфоцитов к гормонам adenогипофиза. *Успехи физиологических наук*. 2017; 48(1): 80–90.
54. Тишевская Н.В., Бабаева А.Г., Геворкян Н.М. Влияние морфогенетической активности лимфоцитов на реактивность и резистентность организма. 2018. *Онтогенез*. 49(1): 54–66. <https://doi.org/10.7868/S047514501801007X>
58. Харченко Е.П. Иммунное узнавание и иммунная привилегия. *Иммунология*. 2008; 2: 118–24.
59. Харченко Е.П. Толерантность матери и плода как проявление регуляторного континуума и пластиности их иммунных систем. *Медицинская иммунология*. 2011; 13(2): 121–32.
62. Блинов М.Н., Луганова И.С., Владимирова А.Д. Включение экзогенной РНК в лейкоциты человека. *Проблемы гематологии и переливания крови*. 1981; 26(1): 38–40.
63. Тишевская Н.В., Бабаева А.Г., Геворкян Н.М. Роль лимфоцитарных РНК в межклеточном информационном обмене и регуляции регенеративных процессов. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2016; 102(11): 1280–1301.
67. Васильев К.А., Полевщикова А.В. Развитие тимуса в раннем онтогенезе: сравнительный аспект. *Онтогенез*. 2015; 46(3): 143–54.
69. Геодакян В.А. Дифференциация на постоянную и оперативную память в генетических системах. *Материалы конференции «Структурные уровни биосистем»*. М., 1967.
70. Геодакян С.В. *Бинарно-сопряженные системы. Происхождение, структура и эволюция*. М., Арт-Издат. 2023. ISBN: 978-5-600-03536-2. (<http://geodakian.com>)

References

1. Wolff H. The biologic significance of white blood cells in semen. *Fertility and Sterility*. 1995; 63(6): 1143–57.
2. Wolff H., Anderson D.J. Immunohistologic characterization and quantitation of leukocyte subpopulations in human semen. *Fertility and Sterility*. 1988; 49(3): 497–504.
3. Voisin A., Whitfield M., Damon-Soubeyrand Ch., Goubely C., Henry-Berger J., Saez F. et al. Comprehensive overview of murine epididymal mononuclear phagocytes and lymphocytes: Unexpected populations arise. *J. Reprod. Immunol.* 2018; 126: 11–7. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2018.01.003>
4. Viosin A., Saez F., Drevet J., Guitton R. The epididymal immune balance: a key to preserving male fertility. *Asian J. Androl.* 2019; 21(6): 531–539. https://doi.org/10.4103/aja.aja_11_19
5. Ritchie A.W., Hargreave T.B., James K., Chisholm G.D. Intraepithelial Lymphocytes in the Normal Epididymis. A Mechanism for Tolerance to Sperm Auto-Antigens? *Br. J. Urol.* 1984; 56(1): 79–83. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.1984.tb07169.x>
6. Eggert-Kruse W., Bellmann A., Rohr G., Tilgen W., Runnebaum B. Differentiation of round cells in semen by means of monoclonal antibodies and relationship with male fertility. *Fertility and Sterility*. 1992; 58: 1046–55.
7. Witkin S.S., Jeremias J., Bongiovanni A.M., Munoz M.G. Immune regulation in the male genital tract. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 1996; 4(3): 131–5. <https://doi.org/10.1155/S1064744996000294>
8. Gong J., Zeng Q., Yu D., Duan Y. T-Lymphocytes and testicular immunity: a new insight into immune regulation in testes. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22: 57. <https://dx.doi.org/10.3390/ijms22010057>
9. Medavar P.B. Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 1954; 7: 320–38.
10. Robertson S.A., Mau V.J., Tremellen K.P., Seamarck R.F. Role of high molecular weight seminal vesicle proteins in eliciting the uterine inflammatory response to semen in mice. *J. Reprod. Fertil.* 1996; 107: 265–77.
11. Robertson S.A., Mau V.J., Hudson S.A., Tremellen K.P. Cytokine-leukocyte networks and the establishment of pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.* 1997; 37: 438–42.

12. Tremellen K.P., Seemark R.F., Robertson S.A. Seminal transforming growth factor beta1 stimulates granulocyte-macrophage colony-stimulating factor production and inflammatory cell recruitment in the murine uterus. *Biol. Reprod.* 1998; 58: 1217–25.
13. Robertson S.A., Allanson M., Mau V.J. Molecular regulation of uterine leukocyte recruitment during early pregnancy in the mouse. *Trophoblast Res.* 1998; 11: 101–20.
14. Robertson S.A. Control of the immunological environment of the uterus. *Rev. Reprod.* 2000; 5: 164–74.
15. Robertson S.A., Sharkey D.J., Tremellen K.P., Danielsson R.G. Semen elicits immunological changes in the human cervix. *J. Soc. Gynecol. Invest.* 2001; 9: 228A.
16. Robertson S.A., Sharkey D.J. The role of semen in induction of maternal immune tolerance to pregnancy. *Semin. Immunol.* 2001; 13(4): 243–54. <https://doi.org/10.1006/smim.2000.0320>
17. Robertson S.A., Bromfield J.J., Tremellen K.P. Seminal ‘priming’ for protection from pre-eclampsia – a unifying hypothesis. *Journal of Reproductive Immunology.* 2003; 59(2): 253–65. [https://doi.org/10.1016/s0165-0378\(03\)00052-4](https://doi.org/10.1016/s0165-0378(03)00052-4)
18. Johansson M., Bromfield M., Robertson S.A. Semen activates the female immune response during early pregnancy in mice. *Immunology.* 2004; 112(2): 290–300. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2004.01876.x>
19. Sharkey D.J., Macpherson A.M., Tremellen K.P., Robertson S.A. Seminal plasma differentially regulates inflammatory cytokine gene expression in human cervical and vaginal epithelial cells. *Molecular Human Reproduction.* 2007; 13(7): 491–501. <https://doi.org/10.1093/molehr/gam028>
20. Robertson S.A., Prins J.R., Sharkey D.J., Moldenhauer L.M. Seminal fluid and the generation of regulatory T cells for embryo implantation. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2013; 69(4): 315–30. <https://doi.org/10.1111/aji.12107>
21. Robertson S.A., Sharkey D.J. Seminal fluid and fertility in women. *Fertility and Sterility.* 2016; 106(3): 511–9. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.07.1101>
22. Poletaev A.B., Churilov L.P. *Immunology of Health and Disease: Simple Answers to Complex Questions. [Immunologiya zdorovya i bolezni. Prostie otveti na slozhnie voprosi.]* St.-Petersburg; 2021. (In Russian)
23. Babaeva A.G. *Morphogenetic properties of lymphocytes and their importance for organ regeneration. Abstracts of reports. Physiology and pathology of connective tissue. [Morfogeneticheskie svoystva limfositov i ikh znachenie dlya regeneratsii organov. Tezisy dokladov Fiziologiya i patologiya soedinitel'noy tkani].* Novosibirsk. 1980; 1: 4–5. (In Russian)
24. Kraskina N.A., Veger E.M., Gutorova N.M., Blyakher M.S., Babaeva A.G., Kharlova G.V. et al. Controlling influence of suppressor T-lymphocytes on cell proliferation in various tissues. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 1988; 105(5): 464–6. (In Russian)
25. Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Komarova I.A. The effect of rat spleen lymphoid cell total RNA preparations on *in vitro* erythropoiesis. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya.* 2014; 4(12): 35–9. (In Russian)
26. Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Komarova I.A. Influence of preparations of spleen lymphoid cell total RNA on erythropoiesis in culture of erythroblast islets of polycythemic animals. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya.* 2014; 4(12): 40–3. (In Russian)
27. Babaeva A.G., Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M. *About the morphogenetic properties of RNA of lymphoid and stem cells during regenerative processes. [O morfogeneticheskikh svoystvakh RNK limfoidnykh i stvolovykh kletok pri vosstanovitel'nykh protsessakh].* Moscow, 2016. (In Russian)
28. Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V. *Essays on features of study effects of RNA and RNA-therapy. [Ocherki ob osobennostyakh izucheniya effektov RNK i ob RNK-terapii].* Moscow, 2019. (In Russian)
29. Babaeva A.G., Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Golovneva E.S., Maksakov D.A. Regression of experimental benign prostatic hyperplasia under the influence of lymphocytic and organ RNA. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya.* 2018; 1(25): 61–6. (In Russian).
30. Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Bolotov A.A. Effect of preliminary introduction of bone marrow cell total RNA on the dynamics of erythropoiesis restoration in rats after acute gamma-irradiation. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2016; 161(5): 670–3. (In Russian)
31. Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Zakharov Y.M. Correction of post-radiation disorders of erythropoiesis with the total RNA of bone marrow and thymus cells. *Radiatsionnaya biologiya. Radioecologiya.* 2017; 57(4): 384–390. <https://doi.org/10.7868/S086980311704004X> (In Russian)
32. Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorkyan N.M. Comparative analysis of hematopoietic activity of total RNA of bone marrow and lymphoid cells of the spleen in chronic benzene anemia in rats. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2019; 63(2): 56–64. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2019.02.56-64> (In Russian)
33. Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Babaeva A.G. The role of lymphoid and stem cell total RNAs in correction of blood glucose levels in experimental diabetes mellitus. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2019; 63(3): 88–95. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2019.03.88-95> (In Russian)
34. Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V. Pathogenesis as a problem of functional failure and imbalance in the T-lymphocyte population. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2021; 65(2): 109–19. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2021.02.109-119> (In Russian)
35. Gonikova Z.Z., Nikolskaya A.O., Kirsanova L.A., Shagidulin M.Yu., Onishchenko N.A., Sevastianov V.I. The comparative analysis of the effectiveness of stimulation of liver regeneration by bone marrow cells and total RNA of these cells. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov.* 2019; 21(1): 113–21. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2019-1-113-121> (In Russian)
36. Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Golovkina L.L., Muratova Ju.O., Ragimov A.A. On the hematopoietic properties of ribonucleic acid of peripheral blood lymphocytes in patients with true polycythemia and healthy donors. *Oncogematologiya.* 2015; 10(2): 58–62. (In Russian)
37. Niu M.C. Thymus ribonucleic acid and embryonic differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1958; 44(12): 1264–74.
38. Niu M.C., Cordova S.S., Niu L.C. Ribonucleic acid-induced changes in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1961; 47(10): 1689–700.
39. Niu M.C., Cordova S.S., Niu L.C., Radbill C.L. RNA-induced biosynthesis of specific enzymes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1962; 48(11): 1964–9.
40. Belous A.M., Godin V.P., Pankov E.Ya. *Exogenous Nucleic Acids and Reductive Processes. [Ekzogennie nukleinovye kisloty i vosstanovitel'nye protsessy].* Moscow; Meditsina; 1974. (In Russian)
41. Smirnov A.V. Specific effects and possible mechanisms of action of exogenous RNA. *Uspekhi sovremennoi biologii.* 1988; 106(116): 20–36. (In Russian)
42. Gevorkyan N.M. Increasing the effectiveness of stem cell therapy with the assistance of total RNA of lymphocytes from healthy donors. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2023; 67(3): 124–36. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.03.124-136> (In Russian)
43. Gevorkyan N.M. Alternative possibilities for correction and prevention of hereditary and congenital pathologies by reprogram-

- ming cells *in vivo* using total RNA of lymphocytes from healthy individuals. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya*. 2024; 68(3): 85–94. (In Russian).
44. Mackay C.R., Marston W.L., Dudler L., Spertini O., Tedder T.F., Hein W.R., Tissue-specific migration pathways by phenotypically distinct subpopulations of memory T cells. *Eur. J. Immunol.* 1992; 22: 887–895.
45. Geodakyan V.A. On the differentiation of systems into two conjugate subsystems. In: *Problems of biocybernetics. Control and information processes in living nature*. M., 1971; 26 p. (In Russian)
46. Carr D.J., Blalock J.E. From the endocrinology of lymphocytes toward a molecular basis of the network theory. *Horm. Res.* 1989; 31(1–2): 76–80.
47. Carr D.J. Neuroendocrine peptide receptors on cells of the immune system. *Neuroimmunoendocrinology. Chem. Immunol. Karger. Basel. Switzerland*. 1992; 84–105.
48. Weigent D.A. Expression of lymphocyte-derived growth hormone (GH) and GH-releasing hormone receptors in aging rats. *Cell Immunol.* 2013; 282(2): 71–8. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2013.04.009>
49. Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorkyan N.M. The role of lymphocyte RNAs in intercellular information exchange and regulation of regenerative processes. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2016; 102(11): 1280–301. (In Russian)
50. Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. T-lymphocytes and tissue growth factors. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2015; 101(8): 865–84. (In Russian)
51. Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. The role of T-lymphocytes in the hormonal regulation of morphogenetic processes. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2015(b); 135(2): 189–202. (In Russian)
52. Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. Modern view on the role of T-lymphocytes in the regulation of erythropoiesis. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2016; 136(1): 81–95. (In Russian)
53. Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. On the sensitivity of T-lymphocytes to hormones of the adenohypophysis. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*. 2017; 48(1): 80–90. (In Russian)
54. Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorkyan N.M. The influence of morphogenetic activity of lymphocytes on the reactivity and resistance of the body. *Ontogenet.* 2018; 49(1): 54–66. <https://doi.org/10.7868/S047514501801007X> (In Russian)
55. Holtmeier W. Compartmentalization of γ/δ T cells and their putative role in mucosal immunity. *Crit Rev Immunol.* 2003; 23(5–6): 473–88. <https://doi.org/10.1615/critrevimmunol.v23.i56.60>
56. Derbinski J., Gäßler J., Brors B., Tierling S., Jonnakuty S., Hergenhahn M., et al. Promiscuous gene expression in thymic epithelial cells is regulated at multiple levels. *JEM*. 2005; 202(1): 33–45. <https://doi.org/10.1084/jem.20050471>
57. Holtmeier W., Gilje J., Zeuzem S., Šinkora M. Distribution and development of the postnatal murine Vd1 T-cell receptor repertoire. *Immunology*, 2010; 131: 192–201. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2010.03290.x>
58. Kharchenko E.P. Immune recognition and immune privilege. *Immunologiya*. 2008; 2: 118–24. (In Russian)
59. Kharchenko E.P. Maternal and fetal tolerance as a manifestation of the regulatory continuum and plasticity of their immune systems. *Meditinskaya immunologiya*. 2011; 13(2): 121–32. (In Russian)
60. Herrera F., Adamson R.H., Gallo R.C. Uptake of transfer ribonucleic acid by normal and leukemic cells. *PNAS USA*. 1970; 67(4): 1943–50.
61. Wang S.R., Giacomoni D., Dray S. Physical and chemical characterization of RNA incorporated by rabbit spleen cells. *Exp. Cell. Res.* 1973; 78(1): 15–24.
62. Blinov M.N., Luganova I.S., Vladimirova A.D. Incorporation of exogenous RNA into human leukocytes. *Problemy genetologii i perelivaniya krovi*. 1981; 26(1): 38–40. (In Russian)
63. Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorkyan N.M. The role of lymphocyte RNAs in intercellular information exchange and regulation of regenerative processes. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2016; 102(11): 1280–1301. (In Russian)
64. Zenclussen A.C., Gerlof K., Zenclussen M.L., Sollwedel A., Bertoja A.Z., Ritter T., et al. Abnormal T-cell reactivity against paternal antigens in spontaneous abortion: adoptive transfer of pregnancy-induced CD4+CD25+ T regulatory cells prevent fetal rejection in a murine abortion model. *Am. J. Pathol.* 2005; 166: 811–22. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)62302-4](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)62302-4)
65. Shevach E.M. CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat. Rev. Immunol.* 2002; 2: 389–400.
66. Samstein R.M., Josefowicz S.Z., Arvey A., Treuting P.M., Rudensky A.Y. Extrathymic generation of regulatory T cells in placental mammals mitigates maternal-fetal conflict. *Cell* 2012; 150: 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.05.031>
67. Vasil'ev K.A., Polevshchikov A.V. Thymus Development in Early Ontogeny: A Comparative Aspect. *Ontogenet.* 2015; 46(3): 143–54. (In Russian)
68. Maximow A. Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere. *Folia Haematologica*. 1909. 8: 125–34.
69. Geodakyan V.A. Differentiation into permanent and operational memory in genetic systems. *Proceedings of the conference “Structural levels of biosystems”*. [Differentsiatsiya na postoyannyyu i operativnuyu pamyat' v geneticheskikh sistemakh. Materialy konferentsii «Strukturnyye urovni biosistem»]. Moscow. 1967. (In Russian)
70. Geodakyan S.V. *Binary-conjugated systems. Origin, structure and evolution. [Binarno-sopryazhennye sistemy. Proiskhozhdenie, struktura i evolyutsiya.]* Moscow: Art-Izdat, 2023. ISBN: 978-5-600-03536-2 (geodakian.com) (In Russian)

Сведения об авторе:

Геворкян Нина Михайловна, науч. сотр., лаб. биосинтеза белков ФГБНУ «НИИ биомедхимии им. В.Н. Ореховича»
РАН, e-mail: gevorkiann@yandex.ru